

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
8. Juli 2004 (08.07.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/056857 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C07K 14/47**,
C12N 15/11, A61K 38/17, G01N 33/50, A01K 67/027

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/014762

(22) Internationales Anmeldedatum:
19. Dezember 2003 (19.12.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 61 650.7 20. Dezember 2002 (20.12.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **ERNST-MORITZ-ARNDT-UNIVERSITÄT
GREIFSWALD** [DE/DE]; Domstr. 11, 17487 Greifswald
(DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **KLÖTING, Ingrid**
[DE/DE]; Am Sportplatz 9, 17495 Lühmannsdorf (DE).
KLÖTING, Nora [DE/DE]; Am Sportplatz 14, 17495
Lühmannsdorf (DE).

(74) Anwälte: **WEBER-QUITZAU, Martin** usw.; Uexküll &
Stolberg, Beselerstr. 4, 22607 Hamburg (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO Patent (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 28. Oktober 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: USE OF THE MULTIFUNCTIONAL TRANSCRIPTION FACTOR YIN-YANG-1 AND VARIANTS THEREOF FOR
TREATING ILLNESSES, ESPECIALLY TYPE 1 DIABETES

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG DES MULTIFUNKTIONELLEN TRANSKRIPTIONSFAKTORS YIN-YANG-1 UND VA-
RIANTEN DAVON ZUR BEHANDLUNG VON ERKRANKUNGEN, INSBESONDERE VON TYP-1 DIABETES

(57) Abstract: The invention relates to the influence of the activity and/or the expression of the multifunctional transcription factor
Yin-Yang-1 (YY1), and of variants thereof, for the treatment of many different illnesses. The invention especially relates to a mutated
nucleic acid sequence which codes for a variant of the human YY1 and has a protective action against diabetes, according to the
invention.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die Beeinflussung der Aktivität und/oder der Expression des multi-
funktionellen Transkriptionsfaktors Yin-Yang-1 (YY1) und Varianten davon zur Behandlung verschiedenster Erkrankungen. Die
Erfindung betrifft insbesondere eine mutierte Nukleinsäuresequenz, die für eine Variante des humanen YY1 kodiert und der erfin-
dungsgemäss eine diabetesprotektive Wirkung zugeschrieben wird.

WO 2004/056857 A3

10/539535

JC05 Rec'd PCT/PTO 17 JUN 2005

77/10000

Verwendung des multifunktionellen Transkriptionsfaktors
Yin-Yang-1 und Varianten davon zur Behandlung von Erkrankun-
gen, insbesondere von Typ-1 Diabetes

Die vorliegende Erfindung betrifft die Beeinflussung der Aktivität und/oder der Expression des multifunktionellen Transkriptionsfaktors Yin-Yang-1 (YY1) und Varianten davon zur Behandlung verschiedenster Erkrankungen. Die Erfindung betrifft insbesondere eine mutierte Nukleinsäuresequenz, die für eine Variante des humanen YY1 kodiert und der erfindungsgemäß eine diabetesprotektive Wirkung zugeschrieben wird.

Einführung

Der insulinabhängige Typ-1-Diabetes (IDDM- Insulin-Dependent Diabetes Mellitus) ist eine komplexe Erkrankung, bei der zelluläre und humorale Immunprozesse ablaufen, die eine Zerstö-

rung der körpereigenen Insulin-produzierenden Beta-Zellen zur Folge haben. Man spricht daher beim Typ-1-Diabetes von einer Autoimmunerkrankung. Es besteht heute kein Zweifel mehr, daß der Typ-1-Diabetes genetisch determiniert ist. Gesichert ist, daß bestimmte Klasse-II-Gene des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC), der beim Menschen als HLA (Human Leucocyte Antigen) bezeichnet wird, an der Entstehung des Typ-1-Diabetes beteiligt, aber allein nicht ausreichend sind. Diese diabetes-suszeptiblen Klasse-II-Gene, die als IDDM1 bezeichnet werden, erklären nur etwa 40% des Risikos, an einem Typ-1-Diabetes zu erkranken. Daher wurde in den letzten Jahren versucht, chromosomale Regionen mit diabetogenen Nicht-MHC-Genen zu lokalisieren. Im Ergebnis dieser Studien wurden bis dato mehr als 17 Nicht-MHC-Gene (IDDM2, IDDM3, IDDM4 etc.), die auf verschiedenen Chromosomen kartieren, beschrieben. Mit Ausnahme des IDDM2 und IDDM18, bei denen das diabetogene Gen bekannt ist, sind bei den anderen IDDM's die entsprechenden Gene immer noch unbekannt (1,2).

Bei der Identifikation dieser Nicht-MHC-Gene sind Modelltiere, die ähnlich dem Menschen einen Typ-1-Diabetes entwickeln, sehr hilfreich. Als Modelltier für den Typ-1-Diabetes ist die spontan diabetische BB/O(ttawa)K(arlzburg)-Ratte ausgezeichnet geeignet, da dieses Modelltier sowohl klinisch, als auch ätiopathogenetisch ein hohes Maß an Analogien zum menschlichen Typ-1-Diabetes aufweist (3-7). Auch bei der BB/OK-Ratte sind die Klasse-II-Gene des MHC essentiell aber nicht ausreichend für die Diabetesentwicklung. Die BB/OK-Ratte ist homozygot für den MHC-Haplotyp RT1^u. Analog dem Menschen wird dieses diabetogene Gen als Iddm1 bezeichnet. Neben diesem Genkomplex ist bei der BB/OK-Ratte allerdings noch ein weiteres Gen, Iddm2, für die Diabetesentwicklung erforderlich. Es handelt sich dabei um ein Gen (1), daß eine Lymphopenie verursacht, rezessiv vererbt und

als Iddm2 bezeichnet wird. Daß beide diabetogenen Gene, Iddm1 und Iddm2, zwar essentiell aber nicht ausreichend sind, wurde durch verschiedene Kreuzungsstudien unter Nutzung diabetischer BB/OK-Ratten und verschiedener diabetesresistenter Rattenstämme belegt (8-11). Gleichgültig, ob diabetesresistente LEW.1A, DA, SHR oder wilde Ratten (12) mit diabetischen BB/OK-Ratten gekreuzt wurden, entwickelte kein F1-Hybrid und nur etwa 50% der für beide diabetogenen Gene Iddm1 und Iddm2 bereits homozygoten ersten Rückkreuzungshybriden (R1) einen Typ-1-Diabetes. Der Prozentsatz von 50% an diabetischen Tieren bei den für Iddm1 und Iddm2 bereits homozygoten R1-Hybriden weist darauf hin, daß mindestens ein weiteres diabetogenes Gen, Iddm3, für die Entwicklung eines Diabetes bei BB/OK-Ratten notwendig ist. Die genomweite Suche nach diesem dritten Gen in zwei Kreuzungspopulationen, [(BB x DA)F1 x BB] und [(BB x SHR)F1 x BB], zeigte, daß dieses „dritte Gen“ nicht nur ein Gen ist. Es wurden zwei diabetogene Gene, Iddm3 und Iddm4, auf Chromosom 18 bzw. 6 und ein Diabetes-protektives Gen, Iddm5r, auf Chromosom 1 kartiert (13,14). Während Iddm3 in beiden Kreuzungspopulationen nachgewiesen und damit bestätigt wurde (13), waren Iddm4 und Iddm5r nur bei [(BB x SHR)F1 x BB] R1-Hybriden nachweisbar (14).

Vergleicht man die homologen Bereiche zwischen Ratte und Mensch, zeigt sich, daß beim Menschen die homologen Regionen für Iddm3 auf 18q21-q23, Iddm4 auf 14q24-q32 und Iddm5r auf 11p15 kartieren. Es handelt sich dabei um Bereiche, bei denen auch beim Menschen die diabetogenen Gene IDDM6 auf 18q21-23 (Iddm3), IDDM11 auf 14q24-q32 (Iddm4) und IDDM2 auf 11p15 (Iddm5r) kartiert wurden (15-17).

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher zunächst, die diabetogenen Gene zu identifizieren und therapeutische Ansätze zur Verhinderung der Typ-1-Diabetes zu formulieren.

Im Rahmen der Erfindung wurde überraschenderweise ein Gen identifiziert, das im diabetesprotektiven chromosomalen Bereich liegt, dessen mutierte Varianten geeignet sind, im Rattenmodell Typ-1-Diabetes zu verhindern. Infolge dieses Erkenntnis steht damit erstmals ein wichtiger therapeutischer Ansatz für Diagnose und Präventivtherapie von Typ-1-Diabetes zur Verfügung. Darüber hinaus ergeben sich durch weitere, erfindungsgemäß gewonnene Erkenntnisse vielfältige zusätzliche Anwendungsmöglichkeiten, die nachfolgend ebenfalls beschrieben werden.

Vorarbeiten

Um zu prüfen, welche Bedeutung die kartierten Iddm's der BB/OK-Ratte tatsächlich bei der Entstehung eines Typ-1-Diabetes haben, wurden verschiedene kongene BB/OK-Rattenlinien etabliert.

Neben den bereits beschriebenen kongenen BB.SHR-Linien (BB.1K, BB.Sa, BB.LL, BB.Bp2, BB.Xs) wurden zwei weitere BB.SHR-Linien etabliert (18-24). Es wurde ein Bereich von Chromosom 6 (D6Rat184 - Iddm4 - D6Rat3, ca.15 cM) und einer von 18 (Olf - Iddm3 - D18Rat44, ca.24 cM) der BB/OK-Ratte durch den der SHR-Ratten ersetzt (24). Die phänotypische Charakterisierung dieser neu etablierten BB-Linien, kurz als BB.6S und BB.18S bezeichnet, zeigte, daß die Diabetesinzidenz in beiden Kongenen gesenkt werden konnte, besonders allerdings bei der kongenen BB.6S-Linie (24). Während ca. 86% aller BB/OK-Ratten einen Typ-1-Diabetes bis zur 32. Lebenswoche entwickeln, erkrankten

im gleichen Zeitraum in der neu etablierten BB.6S-Linie nur 14% und das, obwohl die BB.6S-Tiere homozygot für Iddm1 und Iddm2 sind und im Restgenom der BB/OK-Ratte entsprechen, wie durch eine genomweite Analyse bestätigt wurde (24). D.h. die Wirkung beider essentiellen diabetogenen Gene, Iddm1 und Iddm2, wird durch ein oder mehr Gen/e auf dem transferierten Bereich der diabetes-resistenten SHR-Ratte nahezu vollständig unterdrückt. Ein Ergebnis, welches bis dato einmalig ist. Selbst bei der N(on)O(besen)D(iabetischen)-Maus, auch ein Modell für den Typ-1-Diabetes, wurden diabetogene Gene kartiert und analog kongene NOD-Linien etabliert, um den in vivo-Effekt dieser Gene zu prüfen. Eine drastische Senkung der Diabetesinzidenz wurde durch Austausch eines diabetogenen chromosomalen Bereiches wie bei BB.6S bis dato nicht beschrieben. Eine ähnlich deutliche Senkung der Diabetesinzidenz wie bei BB.6S wurde nur durch Austausch von 2 und mehr chromosomalen Regionen der NOD durch die diabetes-resistenten Stämme erreicht (25-28).

Unterschiede zwischen BB/OK- und BB.6S-Ratten wurden auch beim Manifestationsalter und bei den Lymphozytenphänotypen nachgewiesen. BB.6S-Ratten manifestieren signifikant später (137 ± 14 vs. 103 ± 30 Tage, $p < 0,001$) und haben signifikant weniger aktivierte T-Lymphozyten als BB/OK-Ratten ($36,6 \pm 6,9$ vs. $65,6 \pm 18,4$ %, $p < 0,0001$) (24). Darüber hinaus werden BB.6S-Ratten signifikant schwerer und haben signifikant höhere Serumcholesterolwerte als BB/OK-Ratten (24).

Da auch bei der SHR-Ratte immunologische Phänomene beschrieben wurden (29-31), wurde die drastische Senkung der Diabetesinzidenz von 86% bei BB/OK auf 14% bei BB.6S zunächst in der Weise interpretiert, daß in der transferierten Region ein SHR-Gen oder SHR-Gene lokalisiert ist/sind, dessen/deren Produkt/e die

Autoaggression der diabetogenen Genprodukte der BB-Ratte weitgehend „neutralisieren“ kann/können. Diese Annahme wurde durch die Etablierung einer weiteren kongenen BB/OK-Rattenline unterstrichen.

Neben diabetesresistenten SHR-Ratten wurden auch Wildfangratten zur Erzeugung von kongenen BB.K(arlsburg)W(ild)R(atte)-Ratten verwendet. Analog der BB.6S-Linie wurde der gleiche chromosomale Bereich der BB/OK von 15 cM durch den von Wildfangtieren ausgetauscht (BB.6W). Die Erkrankungshäufigkeit in dieser kongenen BB.6W-Linie ist mit der der BB/OK-Ratte vergleichbar (89% vs. 86%, 32). Daher wird erfindungsgemäß davon ausgegangen, daß die Diabetes-Protektion bei BB.6S das Ergebnis einer „neutralisierenden“ Genwirkung der SHR-Ratte und nicht dem Ersatz von Iddm4 der BB/OK-Ratte anzulasten ist.

Die Identifikation der/des Gene/s war somit angezeigt, denn mit der Identifikation des/der Gens/Gene ist die Möglichkeit verbunden, eine genspezifische Behandlung und/oder Prävention des Typ-1-Diabetes bzw. von Autoimmunerkrankungen per se vornehmen zu können.

Fortführende Arbeiten zur Identifikation des/der diabetesprotektiven Gens/Gene

Nach der Entschlüsselung des menschlichen Genoms (ca. 40.000 Gene) geht man heute davon aus, daß etwa 15-20 Gene pro cM und nicht wie bisher angenommen 50 Gene lokalisiert sind. Ausgehend von dieser Annahme sollten in dem transferierten chromosomalen Bereich der BB.6S-Ratte von ca. 15 cM etwa 225-300 Gene kartieren. Angesichts dieser Zahl ist die Identifikation von möglichen Kandidatengenen für eine Diabetesprotektion ein aussichtsloses Unterfangen, weshalb subkongene BB.6S-Ratten

erzeugt wurden, um den chromosomalen Bereich mit der diabetesprotektiven Wirkung weiterhin einzugrenzen.

BB.6S-Ratten wurden mit diabetischen BB/OK-Ratten gekreuzt. Die resultierenden F1-Hybriden für den Bereich auf Chromosom 6 wurden untereinander gepaart (intercross) und genetisch analysiert, wobei das Markerspektrum erweitert wurde, um möglichst Rekombinationen in kleinen Bereiche erkennen zu können: D6Rat3-D6Rat1-D6wox13-D6Rat101-Ighe/Ckb-D6Mgh2-D6Rat94-D6Rat183-D6Rat10-D6Rat7-D6Rat75-D6Rat9-D6Rat6-D6Rat160-D6Mgh9-D6Rat184.

Die Zuordnung der Linien mit Diabetesprotektion erfolgte nach der Erkrankungshäufigkeit. Erkrankten bereits mehr als 50% der Nachkommen einer subkongenen Linie vor dem 100. Lebenstag, sprach dieser Phänotyp für den der BB/OK-Ratte und die Linie wurde eliminiert. Erkrankten weniger als 15% bis zum 100. Lebenstag, zeigte diese Linie den Phänotyp von BB.6S. Diese Linien wurden für die Weiterzucht zwecks Minimierung der Diabetesprotektiven Region eingesetzt. Durch die Etablierung verschiedener subkongener Linien (BB.6Sa,b,c..) mit dem Phänotyp der BB.6S-Ratte, wurde der in Frage kommende chromosomale Bereich auf < 2 cM (30-40 Gene) eingegrenzt.

Wie nachfolgend dargestellt, kartiert das diabetesprotektive Gen um den Locus D6Mgh2.

Tabelle 1:

cM		BB.6S	BB.6a	BB.6b	BB.6c	BB.6d	BB.6e	BB.6f
	D6Mgh4	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
2.1	D6Rat13	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
4.4	D6Wox5	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
1.5	D6Rat66	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
2.0	D6Rat184/D6Mgh9	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
0.8	D6Rat160	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
1.3	D6Rat6	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
	D6Rat9	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
0.4	D6Rat75	SHR						
0.4	D6Rat7	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
2.1	D6Rat10	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
1.6	D6Rat183	SHR	BB	SHR	BB	BB	BB	SHR
0.4	D6Rat94	SHR	BB	SHR	BB	BB	BB	SHR
1.9	D6Mgh2	SHR	SHR	SHR	BB	BB	BB	SHR
	Ighe	SHR	SHR	BB	SHR	SHR	SHR	SHR
1.7	Ckb/D6Rat101	SHR	SHR	BB	SHR	SHR	BB	SHR
1.0	D6Rat1	SHR	SHR	BB	BB	BB	SHR	BB
1.9	D6Rat3	SHR	SHR	BB	BB	SHR	SHR	BB
	Diabetesinzidenz	15%	10%	22%	>50%	>50%	>50%	14%

Der Locus D6Mgh2 ist ein Mikrosatellit im Efl-Gen. Efl ist ein Pseudogen und kartiert beim Menschen auf Chromosom 14q32 und bei der Maus auf Chromosom 12q14. Nach Angaben der Chromosomenkarte von Watanabe et al. (33) soll auf Chromosom 6q32 der Ratte auch das Gen Macs kartieren (<http://ratmap.ims.u-tokyo.ac.jp>). Dieses Gen ist aber beim Menschen auf Chromosom

6q21-6q22.2 und nicht auf 14q32 lokalisiert worden. Falls dies zutreffen würde, bedeutet es, daß 6q32 der Ratte sowohl homolog zum humanen Chromosom 14q32, als auch 6q21-6q22.2 sein kann. Zwecks Kandidatengensuche war es notwendig, abzuklären, ob Macs tatsächlich auf dem Rattenchromosom 6q32 kartiert. Durch einen Polymorphismus im Macs-Gen (zwischen 901 und 1321, KWR hat 1 Aminosäure mehr) zwischen BB/OK und Wildfangtieren (KWR) wurden die Sequenzen zwischen BB/OK, KWR und BB.KWR (Chr. 6; BB.6W) verglichen. Alle BB.6W-Tiere zeigten den Genotyp der BB/OK-Ratte. Dadurch konnte ausgeschlossen werden, daß Macs auf Chromosom 6q32 der Ratte lokalisiert ist und damit ein Kartierungsfehler vorliegt. Dadurch konnte die Kandidatengensuche durch Homologievergleiche auf 12q13 der Maus und 14q32 des Menschen beschränkt werden.

Da im diabetesprotektivem Bereich auch das Gen Akt1/Pkb kartiert, welches essentiell für die β -Zellfunktion ist (34, 35), wurde zunächst versucht, Akt1/Pkb relativ genau in der Region zu positionieren. Da BB/OK und SHR polymorph sind (Intron zwischen 1321 und 1561), konnte mit Hilfe der subkongenen BB.6S-Linien Akt1/PKB zwischen Ighe und Ckb, also außerhalb der diabetesprotektiven Region, kartiert werden. Damit schied dieses Gen als möglicher Kandidat aus.

Durch die parallel laufende in vivo-Charakterisierung der BB.6S-Ratten im Vergleich zum Parentalstamm BB/OK wurden weitere Erkenntnisse zur Funktion des möglichen Kandidatengens gewonnen:

1. Morphologische Untersuchungen des Pankreas von normoglykämischen BB/OK- und BB.6S-Ratten zeigten signifikante Unterschiede auf. Im Alter von 30 Tagen waren bei BB.6S signifikant mehr Langerhanssche Inseln mit Lymphozyten infiltriert

(Insulitis) als bei BB/OK. Bei jeweils 12 untersuchten BB.6S bzw. BB/OK waren $51,2 \pm 4,6\%$ bzw. $7,5 \pm 2,5\%$ ($p < 0,001$) der Inseln infiltriert. Im Alter von 90 Tagen war der Prozentsatz an Inseln mit Insulitis zwischen beiden Stämmen vergleichbar und lag bei etwa 50% (37). Demnach tritt sowohl bei BB/OK als auch bei BB.6S eine Insulitis auf, die bei BB/OK bei etwa 86% der Tiere und bei BB.6S nur bei etwa 14% zur Zerstörung der Beta-Zellen und damit zum Typ-1-Diabetes führt, was für die Induktion einer Immuntoleranz bei BB.6S sprechen könnte.

Signifikante Unterschiede fanden sich auch zwischen frisch-manifestierten, diabetischen BB/OK und BB.6S im Insulingehalt und Prozentsatz Insulin-positiver β -Zellen. Im Vergleich zu diabetischen BB/OK war der Insulingehalt ($0,15 \pm 0,03$ vs. $0,42 \pm 0,13$ pmol/mg, $p < 0,05$) und der Prozentsatz Insulin-positiver β -Zellen ($0,07 \pm 0,02$ vs. $0,19 \pm 0,06\%$, $p < 0,05$) signifikant niedriger als bei diabetischen BB.6S, was dafür sprechen könnte, daß die Zerstörung der Insulinproduzierenden β -Zellen nicht so aggressiv wie bei BB/OK-Ratten abläuft (37).

2. Untersuchungen zur Frakturheilung bei BB/OK- und diabetes-resistenten LEW.1A-Ratten (38) zeigten, daß der Knochen der BB/OK-Ratte deutlich brüchiger als der von LEW.1A-Ratten war, was auf eine mögliche Störung im Calcium-Stoffwechsel der BB/OK hinwies. Verschiedene Untersuchungen zum Calcium-Stoffwechsel ergaben allein signifikante Unterschiede im Serumcalcitoniningehalt zwischen BB/OK und BB.6S-Ratten. Signifikant höhere Calcitoninwerte wurden bei BB/OK als bei BB.6S nachgewiesen ($2,4 \pm 1,57$ vs. $1,0 \pm 0,65$ pmol/ml; $p = 0,0002$). Da Calcitonin nicht nur die Calcium-Freisetzung des Knochens hemmt, sondern ebenso über verschiedene Protei-

ne und Rezeptoren die Insulinsekretion hemmen kann (39,40), wurde versucht, durch Modulation der Calcium-Zufuhr über die Nahrung von BB/OK und BB.6S einen weiteren Hinweis zum Zusammenspiel von Calcium (Ca) und Diabetesmanifestation zu erhalten.

BB/OK und BB.6S-Ratten wurden mit Standarddiät (0,8% Ca), mit Ca-reicher (2%) und Ca-armer Diät (0,4%) ernährt und bis zur 30. Lebenswoche auf Diabetesentwicklung beobachtet. Während bei BB/OK-Ratten kein Einfluß der Diät auf die Erkrankungshäufigkeit nachweisbar war (Kontrolle=88%; Ca-arm=92%; Ca-reich=90%), erkrankten bei BB.6S-Ratten signifikant mehr Tiere an einem Diabetes, wenn sie mit Ca-reicher Diät ernährt wurden (Kontrolle=12%; Ca-arm=18%; Ca-reich= 45%, $p=0.02$). Darüber hinaus führte die Ca-reiche Ernährung zur Angleichung der Körpermasse und des Serumcholesterolgehaltes bei BB/OK und BB.6S. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Linien traten bis zur 30. Lebenswoche nicht auf. Weitere *in vivo*-Manipulationen, wie Verabreichung von Ca-Kanal-Blockern oder verschiedenen Ca-Antagonisten, ergab keinerlei *in vivo*-Effekte.

3. *In vitro* Untersuchungen an isolierten Langerhansschen Inseln von BB/OK- und BB.6S- Ratten zeigten, daß durch Variation der Ca-Konzentration im Kulturmedium weder der Insulin-gehalt, noch die glukosestimulierte Insulinsekretion zwischen beiden Linien differierte.

Signifikante Unterschiede fanden sich jedoch bei der Proteinexpression mittels Westernblottanalyse. Das Ca-bindende Protein, Calbindin-D28k, war in Inseln von BB.6S-Ratten bereits unter Basalbedingungen doppelt so hoch wie das von BB/OK-Ratten. Zunehmende Ca-Konzentration im Medium erhöhte

deutlich die Proteinexpression von Calbindin-D28k bei BB.6S-Inseln während die Expression bei BB/OK-Ratten durch Ca fast unbeeinflusst blieb. Calbindin-D28k ist ein cytosolisches Ca-bindendes Protein, welches bevorzugt in der Niere, aber auch im Pankreas und Gehirn exprimiert wird und den apoptotischen (gengesteuerten) Zelltod verhindern kann (41,42). Funktional wird vermutet, daß Calbindin-D28k bei der Regulation der Ca-Reabsorption beteiligt ist.

Da das Kandidatengen

1. die zwei essentiellen diabetogenen Gene, Iddm1 und Iddm2, nahezu ausschalten kann,
2. bei der Immuntoleranz und beim apoptotischen Zelltod,
3. als auch bei der Regulation von Ca, Ca-bindenden Proteinen (Calbindin-D28k u.a.) und Hormonen (Calcitonin, u.a.),
4. bei der Entstehung einer Dyslipidämie involviert ist,

wurde der Schluß gezogen, daß das Gen ein multifunktioneller Transkriptionsfaktor ist.

Das Kandidatengen

Nach Homologievergleichen und Genfunktionsprüfungen wurde der Transkriptionsfaktor Yin Yang-1 (YY1), der mit hoher Wahrscheinlichkeit in der diabetesprotektiven Region bei Mensch und Maus kartiert, im Rahmen der vorliegenden Erfindung als Kandidatengen favorisiert, denn er kann die Transkription einer großen Anzahl von zellulären und viralen Genen aktivieren,

aber auch hemmen bzw. kann selbst Transkription initiieren und entspricht damit einem multifunktionellem Transkriptionsfaktor.

YY1 gehört zu der Klasse der regulatorischen Transkriptionsfaktoren (RTF), d.h. die Bindung erfolgt sequenzspezifisch an proximale und distale Regulationselemente der DNA. Darüber hinaus besitzt er die Fähigkeit, direkt oder indirekt einen Einfluß auf die Transkriptionmaschinerie zu nehmen. Durch seinen vielseitigen molekularen Strukturaufbau (Aktivierungsdomäne, Repressionsdomäne, Zinkfingerstrukturen) ist es ihm möglich, eine differentielle Genaktivität durchzuführen. Das heißt, er kann als zeitlicher, räumlicher, zellspezifischer, organspezifischer oder signalvermittelnder Parameter fungieren. Seine Funktionsmodule erfüllen die Aufgaben der spezifischen DNA-Erkennung, der Transkriptionsaktivierung, Transkriptionsrepression, aber auch die Interaktion mit anderen Proteinen.

Genaufbau - Vergleich

Das Protein von Yin Yang ist gekennzeichnet durch die lokale Anhäufung von Asparaginsäure (D) und Glutaminsäure (E) zwischen den AS-bereichen 43 bis 53. Der Abschnitt ist homolog zw. Ratte und Mensch, jedoch unterscheidet sich die Anzahl und die Position von E und D voneinander. Die Ratte besitzt 5 x E und 6 x D, wobei der Mensch über 6 x E und 5 x D verfügt. Daran schließt sich ein Histidin-Cluster bei der Ratte von 54 bis 79 und beim Menschen von 54 bis 82 an. Es fehlen 3 Histidine bei der Ratte gegenüber der humanen Sequenz. Es folgt eine GA/GK reiche Domäne von 154 bis 198 beim Menschen. Bei der Ratte ist dieser Positionsbereich um 3 AS-Positionen in Richtung N-terminales Ende versetzt. (151-195). Die vier Zinkfinger der hu-

manen Sequenz beginnen an Position 298 und enden an Position 407. In der Rattensequenz erstreckt sich dieser Bereich von 295 bis 404. Die gesamte AS-Länge beträgt beim Menschen 414 und bei der Ratte 411 AS (s. Sequenzprotokoll: SEQ ID NO:2 und 4; die Bezeichnung "SEQ ID NO:" entspricht hier und im folgenden der Sequenzkennzahl "<400>" nach WIPO Standard ST.25).

Funktionelle Domänen

Viele Forschergruppen haben die Struktur und Funktion von YY1 mit Hilfe von Deletionsmutanten, sowie mit Reporterkonstrukten analysiert. Diese Ergebnisse sind in Fig. 1 zusammengefaßt.

Übereinstimmend wurden zwei Aktivierungsdomänen gefunden. Sie sind im Bereich des N-terminalen Endes und in der Region des Zinkfingers lokalisiert. Darüber hinaus konnten von zwei Gruppen weitere Domänen mit aktivierender Funktion in der Nähe des C-Terminus lokalisiert werden (397-414 und 370-397) (43,44). Man argumentierte die Maskierung der N-terminalen Aktivierungsdomäne durch die C-terminale Domäne, sowie daß bei Deletion der C-terminalen Domäne die N-terminale Domäne demaskiert wird, so daß YY1 als konstitutiver Aktivator agieren kann. Diese Ergebnisse führten zu dem Schluß, daß nur unter bestimmten Bedingungen YY1 zum Aktivator wird. Es zeigte sich, daß das E1A in der Lage war, Yin Yang in einen Aktivator umzuwandeln (43).

Repressionsdomänen konnten für den Zinkfingerbereich lokalisiert werden. Dabei werden dem Zinkfinger 1 und 2 die Repressionsaktivität zugesprochen, wobei Zinkfinger 2 und 3 für die DNA-Bindung zuständig sein sollen (45). Bei Betrachtung der Röntgen-Cokristallstruktur von Zinkfinger 2 und 3 stellte man

im Gegensatz dazu fest, daß diese in der Lage waren, an den Basen, sowie an das Phosphatrückgrat der DNA anzugreifen (46). Für den Zinkfinger 1 konnten Kontaktstellen nur für das Phosphatrückgrat und für Zinkfinger 4 nur für einige wenige Basen gezeigt werden.

Weitere Repressionsdomänen zeigten sich überlappend mit der Aktivierungsdomäne an den Positionen von 1 bis 201, sowie von 170 bis 200 (47,48).

Die Interpretation dieser Ergebnisse von Thomas et al. (49) zeigten zusammenfassend, daß sich nur zwei Repressionsdomänen im YY1 Gen befinden, im Bereich von 170 bis 200 und in der Zinkfingerregion, die vielleicht zusammen interagieren können (vgl. Fig. 1).

Protein/Protein Interaktionen

Yin Yang ist imstande, mit Proteinen, wie Transkriptionsfaktoren und Coaktivatoren/Corepressoren zu interagieren. Zwei Domänen, die interagieren sind die Bereiche um 150 bis 170 (zentrale Domäne), in denen die GA/GK reiche Domäne mit Teilstücken des Spacers, sowie die C-terminale Region und die Zinkfinger mit Teilen des Spacers lokalisiert sind.

Einige Proteine, wie TBP, CBP/p300, TFIIB, E1A und c-MYC können an beide Regionen binden (43,45,47,50,51). Proteine, die nur mit einer dieser zwei Domänen interagieren können, sind: HDAC2 (zentrale Domäne), SP1 und ATF/CREB (C-terminale Domäne) (45,48,52-54) (vgl. Fig. 2).

Galvin and Shi demonstrierten (45), daß die Repression von CREB und SP1 durch YY1 aktivator-spezifisch ist. Die Autoren postulierten, daß YY1 die Target (s) der Aktivatoren interferiert, anstelle von direkter Bindung zu diesen zwei Faktoren.

Nur ein Protein, E1A, wurde bisher gefunden, welches direkt mit der Aktivierungsdomäne von YY1 interagiert (43,47,55). Seit dieser Entdeckung wird diskutiert, ob YY1 seine Repressorfunktion in Richtung Aktivator auch verändern kann, möglicherweise durch Maskierung seiner Repressionsdomänen über Modifizierung, oder aber über Freilegung seiner Aktivierungsdomäne.

Promotorbindung

Ausgezeichnet durch vier Cys2-His2-Zinkfinger ist Yin Yang in der Lage, entweder die Transkription zu aktivieren oder zu inhibieren, was jedoch von der Promotorsequenz der Gene und von der Konzentration des YY abhängig ist. Die Consensus-Sequenz (C/t/a)CATN(T/a)(T/g/c), die in vielen Promotoren von viralen und zellulären Genen zu finden ist, kann über den Zinkfinger gebunden werden (56).

Repressionsmodelle

Neben der geregelten Aktivierung der Transkription stellt auch dessen Repression einen wichtigen Kontrollmechanismus der Genaktivität dar. Repression durch Umkehrung bzw. Aufhebung genaktivierender Prozesse kann durch YY1 bewirkt werden. Im YY1-Genabschnitt wurden mehrere Repressionsbereiche gefunden (siehe Fig. 3).

Drei Modelle der Repressoraktivität sind bis zum heutigen Stand bekannt. Im ersten Modell deplaziert YY1 den Aktivator.

Störende Eigenschaften weist er im zweiten Modell auf. Er behindert den Aktivator, sowie die generellen Transkriptionsfaktoren (GTF) in der Ausübung ihrer Funktion.

Eine indirekte Repression (Drittes Modell) führt YY1 über die Rekrutierung von Corepressoren aus. Er nimmt indirekten Einfluß auf die Chromatinstruktur (49). Von besonderem Interesse sind dabei die HDAC 1, 2 und 3, als Corepressoren. HDAC's stehen im Zusammenhang mit Auflockerung der Chromatinstruktur. Alle drei Proteine sind globale Regulatoren der RPD3, d.h. sie sind in der Lage, Histone zu deacetylieren (in vitro). Außerdem können die HDAC bei Dirigation zum Promotor direkt die Transkription blockieren (48, 57-60). Bei Überexpression von HDAC 2 konnte durch die Gruppe Yang et al. (48) gezeigt werden, daß die Repressionsfunktion von YY1 verstärkt wird. Durch die Entdeckung, daß HDAC 2 im Komplex mit HDAC 1 arbeitet, muß das gleiche auch für HDAC 1 gelten.

Aktivierungsmodelle

Drei Modelle sind bekannt, wie Yin Yang die Transkription aktiviert (siehe Fig. 4). Direkte Aktivierung konnte mit Hilfe des Adenovirus Protein E1A von der Gruppe Shi et al (61) gezeigt werden. Stimulation der Transkription wird erreicht durch die direkte Interaktion YY1 mit den GTF: TAFII55, TBP und TFIIB (62,63). Der zweite Mechanismus konnte am AAV P5 Initiator Element aufgeklärt werden (64). Darüber hinaus wird diskutiert, ob YY1 eine strukturelle Veränderung durchmacht, wenn er mit anderen Proteinen interagiert. Im dritten Modell rekrutiert Yin Yang Coaktivatoren, die mit anderen Transkriptionsfaktoren interagieren. Dieses Modell beinhaltet vielleicht auch die Modifikation des Chromatin durch p300. Durch die Auflockerung der Chromatinstruktur mittels p300 (HAT-

Aktivität), wäre der Zugang zur DNA erleichtert und eine effiziente Bindung möglich (51,55,65).

Regulation von YY1 durch Acetylierung und Deacetylierung:

Die Regulation des Transkriptionsfaktors erfolgt auf der post-translationalen Ebene durch die Interaktion mit anderen Proteinen.

Die Transkriptionsaktivatoraktivität von YY1 ist direkt abhängig von der Assoziation zu den Coaktivatoren p300, CBP, sowie PCAF. Diese Coaktivatoren besitzen Histon-Acetyltransferase (HAT) und sind somit befähigt, Acetylgruppen zu transferieren. Im Gegensatz dazu ist die Repressionsaktivität von YY1 assoziiert mit der Histon-Deacetylase2 (HDAC2) im Bereich 170-200 der Repressionsdomäne.

Die selektive Assoziation von YY1 mit HAT oder HDAC entscheidet darüber, ob er als Aktivator oder Repressor fungiert.

Acetylierung und Deacetylierung durch p300, PCAF und DHAC:

Yin Yang verfügt über 2 Acetylierungsdomänen. Die erste liegt im Bereich zwischen 170 bis 200, die Zweite überlappt den Zinkfingerbereich am C-terminalen Ende zwischen 261-414.

Die Acetylierungen im Bereich 170 bis 200 werden durch p300 und PCAF an den Lysin-Resten durchgeführt. Sechs Paare an Lysinen befinden sich in der ersten Domäne, wobei aber nur 3 verschiedene Lysine durch p300 und PCAF acetyliert werden. Um eine maximale Repressionsaktivität zu erhalten, muß YY1 an allen drei Stellen acetyliert werden. Würde nur ein Lysin durch ein Arginin ersetzt werden, wäre keine maximale Repressionsak-

tivität mehr gewährleistet, aufgrund der eintretenden Konformationsveränderung.

Ein weiterer, entscheidender Punkt der Acetylierung zwischen 170 bis 200 ist, daß sich die Bindungswahrscheinlichkeit von DHAC signifikant erhöht und somit in diesem Bereich auch eine Deacetylierung durch HDAC 1,2 erfolgen kann.

Erstaunlicherweise ist es HDAC auch möglich, in dem zweiten Acetylierungsbereich (261-333) zu binden. Im Gegensatz zur ersten Acetylierungsdomäne findet hier jedoch keine Deacetylierung statt.

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß sich durch die Acetylierung von PCAF im überlappenden Bereich des Zinkfingers (261-333) die DNA-Bindungsaktivität von YY1 erniedrigt (66).

Feinkartierung von YY1

Da die Sequenz der Ratte bis Dezember 2002 noch nicht in der Genbank vorhanden war, wurde erfindungsgemäß die Gensequenz der Maus benutzt, um Primer zu rekrutieren, denn die erste Aufgabe bestand in der Feinkartierung von YY1. Es mußte sichergestellt werden, daß das Gen tatsächlich im diabetesprotektiven Bereich liegt.

Da die Chance, im Intron einen Polymorphismus zu finden, recht groß ist, wurden Primer zur Amplifikation der Introns verwendet (vgl. Fig. 11; Intron 1: K828-F/K829-R; Intron 2: K830-F/K832-R; Intron 3: K831-F/K833-R; Intron 4: K815-F/K817-R; K815-F/K875; K821-F/K817-R; K821-F/K870-R; K874-F/K870-R). Es wurde nur ein sequenzierbares Genprodukt mit genomischer DNA vom Intron 4 erhalten. Das Intron hat 633 Basenpaare (bp) und

unterscheidet sich zwischen BB- und SHR-Ratten an den Positionen 323 (t-a), 502 (g-c) und 528 (a-c). Zur genauen Positionierung von YY1 auf Chromosom 6q32 wurde dieser Polymorphismus unter Verwendung der subkongenen BB.6S-Linien benutzt. YY1 wurde zwischen D6Mgh2 und Ighe kartiert und befindet sich somit im diabetesprotektiven Bereich.

Um zu prüfen, ob der Polymorphismus im Intron 4 auch bei anderen Stämmen vorkommt oder weitere Unterschiede auftreten können, wurde das Intron 4 von folgenden Ratten sequenziert und verglichen: 2 Wildfangtiere (Wildtyp, M+W), jeweils 1 Tier von diabetes-resistenten, ingezüchteten DA/K, BN/Mol, LEW/K und WOKW-Ratten.

WOKW-Ratten entwickeln keine Hyperglykämie (=Diabetes), aber ein komplettes metabolisches Syndrom (Fettsucht, Hyperinsulinämie, Dyslipidämie, gestörte Glukosetoleranz, Hypertonie) und stammen wie BB/OK-Ratten aus der gleichen Wistarratten-Auszuchtpopulation der BioBreeding Laboratories, Ottawa, Canada (67,68).

Im Ergebnis zeigte sich, daß die Intronsequenz zwischen BB/OK und Wildfangtieren, sowie zwischen SHR und DA, BN, LEW.1W, als auch WOKW identisch ist.

Sequenzierung von YY1

Sowohl genomische als auch cDNA wurde mittels PCR unter Verwendung verschiedener Primer so amplifiziert, daß überlappende Genprodukte zur Sequenzierung zur Verfügung standen (vgl. Fig. 11; Promotor: K823-F/K825-R*; Promotor und Exon 1: K884-F/K806-R; Exon 1: K801-F/K804-R; K814-F/K832-R*; Exon 2 und 3: K828-F/K833-R; K831-F/K817-R; Exon 4: K815-F/K870-R; K815-

F/K818-R; K816-F/K819-R; K834-F/K836-R). Die PCR und Sequenzierung wurden wie im Material & Methoden-Teil (M&M) beschrieben durchgeführt.

Das YY1-Gen der Ratte umfaßt 1236 Basenpaare (bp) und besteht aus 411 Aminosäuren (AS), was von Nishiyama et al. 2003 bestätigt wurde (69). Sequenzunterschiede zwischen BB/OK und SHR bzw. BB.6S wurden an Position 603 (c-t), 980 (t-g) und 1004 (g-a) nachgewiesen (vgl. SEQ ID NO:1 und 3). Dieser Basenaustausch führt zur Änderung der Aminosäuren an Position 303 und 311 im Zinkfingerbereich (vgl. SEQ ID NO:2 und 4). Bei BB/OK-Ratten kodieren die AS Methionin (Nukleotide 907-910 ab Startcodon) und Arginin (Nukleotide 931-933 ab Startcodon) und bei SHR-Ratten die AS Arginin und Lysin.

Der Promotorbereich wurde nur teilweise vom Transkriptionsstart (-72) sequenziert, wobei noch ein Bereich von 470 bp mit der GC-Box vorliegt. Unterschiede zwischen BB/OK und SHR waren nicht nachweisbar.

Nach Sequenzvergleichen mit der Maus sollte der Promotorbereich ca. 891 bp vom Transkriptionsstart entfernt sein (Acc: L13969, 1-464, 86% Homologie). Beim Vergleich mit der Humansequenz (Acc: AF047455 Promotor in dieser Sequenz nur -42bp) waren Übereinstimmungen zwischen -636 bis -585 (216-269; 47/54; 87% Übereinstimmung) und -464 bis -392 (392-464; 64/73; 87%) Basen vom Transkriptionsstart zu finden.

Sequenzvergleich der Nukleinsäure und des Proteins zwischen Ratte und Mensch

Der Sequenzvergleich zwischen BB/OK-, SHR-Ratte und Mensch, wie in Fig. 9 und 10 zusammengestellt, zeigten eine bp-

Übereinstimmung von 95,6% bzw. 95,3% und die AS von 96,9 bzw. 96,4%. Berücksichtigt man die Tatsache, daß der Ratte 3 AS fehlen (3 Histidine, 1 x zwischen Aktivierungs- und erster Repressionsdomäne, Position 66 beim Menschen und 2 in der ersten Repressionsdomäne, statt 12 Histidinen hat die Ratte nur 10), erhöht sich die Übereinstimmung im codierenden Bereich zwischen Ratte und Mensch bei den bp auf 97,0 (1206/1239) bzw. 96,8% (1200/1239) und bei den AS auf 97,6% (401/411) bzw. 97,1% (399/411). Im Zinkfinger, der 330 bp und 110 AS umfaßt, stimmen bei der BB/OK-Ratte 99% der bp (327/330) und AS (109/110) und bei SHR-Ratten 98% der bp (325/330) und 97,3% (107/110) der AS überein.

Genexpressionsstudien

Um zu prüfen, inwieweit die Sequenzunterschiede eine Auswirkung auf die Genexpression von YY1 haben, wurden Genexpressionsstudien durchgeführt.

Es wurde mRNA aus isolierten Langerhansschen Inseln, Pankreas, Leber, Gehirn, Thymus und Milz von 8 Tage alten Ratten der Inzuchtstämme BB/OK, SHR, BB.6S und LEW („unbelastete“ Kontrolle) gewonnen, in ssDNA umgeschrieben und für die Genexpressionsstudien eingesetzt (vgl. Material&Methoden-Teil).

Es wurde wiederholt gezeigt, daß der YY1-Zinkfingerbereich unter Verwendung der Primer K831-F/K818-R und K831-F/K870-R in isolierten Langerhansschen Inseln der BB/OK-Ratte bzw. LEW-Ratte stark (YY1-Zinkfinger/GPDH-Intensität = 0.19 ± 0.04) und signifikant erniedrigt in den von SHR- und BB.6S-Ratten exprimiert ist (YY1-Zinkfinger/GPDH-Intensität = 0.03 ± 0.02 ; $p < 0.001$). Im Pankreas zeigte sich ein ähnlicher Expressionsunterschied, jedoch etwas abgeschwächt. Die Untersuchung der Ex-

pression unter Verwendung der Primer K831-F und K870-R zeigte, daß im Pankreas, der Leber und im Gehirn bei BB.6S-Ratten eine zweite, um ca. 150 bp kürzere Bande auftrat, die weder bei BB/OK noch bei SHR und LEW zu beobachten war. Interessant war auch die Tatsache, daß Geschlechtsunterschiede in der Genexpression auftraten. Die Expression bei männlichen Tieren war stets stärker als bei Weibchen. In allen anderen untersuchten Organen wird YY1 exprimiert. Augenfällige Unterschiede zwischen den Stämmen, außer zwischen männlichen und weiblichen Tieren, wurden nicht beobachtet.

Sequenzierung der zweiten Bande bei BB.6S

Da eine zweite Bande nur bei BB.6S-Ratten im Pankreas, in der Leber und im Gehirn auftrat, wurde diese zweite Bande eluiert, amplifiziert und sequenziert (vgl. M&M). Im Ergebnis zeigte sich, daß diese Bande eine verkürzte Zinkfingersequenz ist (vgl. Fig. 12 und SEQ ID NO:7). Danach fehlt ein Teil vom Zinkfinger 1, und Zinkfinger 2 fehlt vollständig (967 bis 1125; vgl. SEQ ID NO:8).

Schlußfolgerungen

Da gezeigt werden konnte, daß

1. YY1 als multifunktionaler Transkriptionsfaktor im diabetesprotektivem Bereich kartiert,
2. Sequenzunterschiede mit Änderung der AS zwischen BB/OK und SHR im Zinkfingerbereich (AS an Position 303 - Methionin/Aginin und 311 Arginin/Lysin sind different) und im Intron 4, das im Zinkfinger liegt, nachweisbar sind,

3. bei BB/OK-Ratten YY1 in isolierten Langerhansschen Inseln und Pankreas deutlich und bei SHR- und BB.6S-Ratten kaum, in den anderen untersuchten Organen jedoch vergleichbar, aber mit 2 Banden bei BB.6S nach Amplifizierung des Zinkfingerbereiches exprimiert ist,

wurde der Schluß gezogen, daß YY1 bei BB.6S in Langerhansschen Inseln unterexprimiert ist und damit diabetesprotektiv wirkt, wobei die zweite Bande im Pankreas und anderen Geweben ebenfalls für die Diabetesprotektion von Bedeutung ist, zumal dem Zinkfinger 2 eine besondere Rolle bei der Transkription zugesprochen wird. Eine Beobachtung, die durch die AS-Änderung im Zinkfingerbereich und/oder im Intron (unterschiedliches Spleißverhalten bei BB/OK und BB.6S) verursacht ist.

Da die Änderung im Zinkfingerbereich eine diabetesprotektive Wirkung hat, sind mehrere Gene in ihrer Regulation/Aktivität beeinträchtigt/verändert. Für eine Beteiligung des Introns an der Diabetesprotektion spricht die Tatsache, daß die Sequenzunterschiede zwischen BB/OK und SHR nachweisbar waren, nicht aber zwischen BB/OK und Wildfangtieren. Die Sequenz zwischen BB/OK und Wildfangtieren war gleich. Dies wiederum erklärt, warum BB.6S-, nicht aber BB.6W-Ratten vor der Entwicklung eines Diabetes geschützt sind.

Infolge der erfindungsgemäß gewonnenen Erkenntnisse eröffnet die Modulation des multifunktionellen Transkriptionsfaktors YY1 auf Expressions- und Regulationsebene zum einen erstmals einen Weg, um Typ-1-Diabetes zu verhindern, zum anderen lassen sich durch diese Modulation auch Autoimmunerkrankungen als solche verhindern. Ferner lassen sich auch weitere Erkrankungen wie Krebs, AIDS, Fettstoffwechselstörungen und Hypertonie positiv beeinflussen.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher ein Protein, das die in SEQ ID NO:4 dargestellte Aminosäuresequenz aufweist. Ferner eingeschlossen sind Homologe des Proteins, die Arginin und an Position 311 Lysin aufweist. Der Homologiegrad beträgt mindestens 95%, vorzugsweise mindestens 97%, und besonders bevorzugt mindestens 99%.

Die Erfindung betrifft auch Peptide, die Fragmente eines vorgenannten Proteins sind und eine Aminosäuresequenz aufweisen, die den die Aminosäurepositionen 303 und 311 in SEQ ID NO:4 (bzw. 306 und 314 in SEQ ID NO:6) umfassenden Sequenzbereich enthält. Die Länge der erfindungsgemäßen Peptide beträgt beispielsweise 53 bis 315 Aminosäuren, vorzugsweise z.B. 315, 117 oder 53 Aminosäuren, wobei die Peptide vorzugsweise die Sequenzbereiche von Position 1 bis 315, von 295 bis 411 bzw. von 299 bis 351 umfassen.

Erfindungsgemäß sind ferner folgende Fragmente wichtig: Aminosäuren 165-214; 255-333; 255-411. Die Numerierung bezieht sich auf die Numerierung gemäß SEQ ID NO:4.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind auch Peptide von Bedeutung, die nur einen Bereich von z.B. Position 295-310 oder 305-320 (Numerierung bezogen auf SEQ ID NO:4) abdecken und somit nur eine der beiden mutierten Aminosäuren einschließen.

Die Erfindung betrifft ferner eine Nukleinsäure, die für ein vorgenanntes Protein oder Peptid kodiert. Die für das Protein mit der in SEQ ID NO:4 kodierende Nukleinsäure weist vorzugsweise die in SEQ ID NO:3 dargestellte Nukleinsäuresequenz auf. Eine für die vorgenannten Homologen kodierende Nukleinsäure

weist eine Nukleinsäuresequenz auf, die den die Nukleinsäurepositionen 979-981 und 1003-1005 in SEQ ID NO:3 umfassenden Sequenzbereich enthält. Die Codons an den genannten Positionen können selbstverständlich infolge der Degeneration des genetischen Codes variieren, solange sie für die Aminosäuren Arginin bzw. Lysin kodieren.

Erfindungsgemäß ist ferner die Intronsequenz wichtig: 1126-1758. (Die Lage der Exons in SEQ ID NO:3 ist: Exon 1:73 bis 729; Exon 2: 730 bis 825; Exon 3: 826 bis 978; Exon 4: 979 bis 1125; Exon 5: 1759 bis 1938; siehe Sequenprotokoll.) Die Numerierung bezieht sich auf die Numerierung gemäß SEQ ID NO:3.

Diabetes Mellitus Typ 1 und Autoimmunerkrankungen an sich

Wie bereits erwähnt, resultiert Typ-1-Diabetes aus der selektiven Zerstörung der Insulin-produzierenden β -Zellen im Pankreas. Der Untergang der β -Zellen wird durch autoreaktive T-Zellen, die gegen β -Zell-spezifische Antigene (Autoantigene) gerichtet sind, gesteuert. Mit der Diabetesmanifestation verbunden ist eine Insulitis (69). Dieser Prozess ist gekennzeichnet durch die lymphozytäre Infiltration der β -Zelle. Da eine Insulitis nicht immer die Antwort auf eine β -Zelldestruktion sein muß, unterscheidet man zwischen einer benignen und destruktiven Insulitis (70). Dieser Prozeß korreliert mit der Cytokinproduktion, wie für Modelltiere (BB-Ratte) und für den Menschen gezeigt werden konnte (71-78). Dabei spielen die Cytokine IFN γ und IFN α während der destruktiver Insulitis eine Hauptrolle. Für die benigne Insulitis werden IL10 und TGF β als Hauptfaktoren angesehen. Darüber hinaus konnte in nicht-diabetischen Mäusen Insulitis durch TNF α , TNF β , sowie IL6 induziert werden, was jedoch nicht zu einer β -

Zellzerstörung führte. Bei transgener Expression von IFN α , IFN γ und IL2 konnte gezeigt werden, daß nicht-diabetische Mäuse eine Insulitis und einen autoimmunen Typ-1-Diabetes entwickeln. Demnach sind IFN γ , IFN α , IL2 und IL10 bei der Entstehung, TNF α , IL4, IL6, sowie TGF β bei der Verhinderung des Typ-1-Diabetes involviert (71-81).

Da alle BB.6S-Ratten eine Insulitis entwickeln, Diabetes aber nur bei etwa 15% der Tiere auftritt (82), muß YY1 auch beim Insulitisprozeß eine Rolle spielen. Entweder schaltet YY1 die protektiven Cytokine an, unterdrückt die pathogenen Cytokine oder er balanciert beide Cytokingruppen so, daß zum einen die β -zelldestruktive Insulitis auftritt oder aber die benigne Insulitis, die nicht zum autoimmunen Diabetes führt, zum Tragen kommt. Da er auch in der Lage ist, IL4 zu aktivieren (83) und IFN γ zu inhibieren (84), wird erfindungsgemäß davon ausgegangen, daß er auch die Relation der T-Helferzellpopulationen, TH1 und TH2, zugunsten von TH2 verschiebt.

Ist durch eine Mutation die AS-Sequenz von YY1 bei Typ-1-Diabetikern verändert, kann er nicht mehr an bestimmte Sequenzen in der DNA binden, oder aber seine Affinität zur Bindungsstelle ist reduziert. D.h., er kann nicht mehr an den IFN γ -Promotor binden, oder mit zu niedriger Affinität, und die IFN γ -Synthese auch nicht mehr hemmen. Eine Überproduktion von IFN γ wäre die Folge. Diese Überproduktion könnte dann zu einer Insulitis führen. Da IFN γ die TH1 Antwort aktiviert, indem er die MHC-Klasse-I-Proteine auf der Oberfläche von β -Zellen hochreguliert (85,86) und sogleich die T-Zelldifferenzierung in Richtung TH1 beeinflusst und dadurch die TH2-Antwort reduziert, wäre eine Verschiebung zwischen TH1 und TH2 gegeben, wie es beim autoimmunen Diabetes postuliert wird. Darüber hinaus ist be-

kannt, daß Makrophagen zuerst in der β -Zelle nachweisbar sind. Da IFN γ ein Stimulator für Makrophagen ist, kann die frühe Einwanderung in die β -Zelle dadurch erklärt werden, daß IFN γ nicht mehr durch YY1 gehemmt wird. Zusätzlich ist YY1 auch prädestiniert, die IL4 Synthese einzuleiten (83). Ist dieser Fakt durch Sequenzveränderung oder Unterproduktion von YY1 auch nicht gegeben, kann die TH1-Antwort nicht mehr durch IL4 als protektives Cytokin unterdrückt werden. Aufgrund einer erhöhten Aktivität von TH1 können cytotoxische T-Zellen (CTL oder CD8⁺) und NK-Zellen ihre Funktion in der β -Zelle als „Killer Zellen“ wahrnehmen. Der apoptotische β -Zelltod, induziert durch FAS-Rezeptoren unter Interaktion mit dem FAS-Liganden, kann durch YY1 auch zusätzlich noch induziert werden (87). Ist der Transkriptionsfaktor bei Typ-1-Diabetikern mutiert, kann er nicht mehr in vollem Maße die FAS-Expression hemmen. Somit erscheint FAS auf der Oberfläche von β -Zellen, und die apoptotische Signalkaskade ist aktiviert. Das Resultat ist der β -Zelltod und damit Typ-1-Diabetes.

Da neonatale Thymektomie bei Modelltieren (BB-Ratte und NOD-Maus) die Entstehung eines Typ-1-Diabetes verhindert (88), wird u.a. auch vermutet, daß beim Typ-1-Diabetes autoreaktive T-Zellen schon während der T-Zelldifferenzierung entstehen. D.h., YY1 müßte schon in einem frühen Stadium der T-Zellentwicklung eingreifen, was man sich wie folgt vorstellen könnte:

Um ein funktionales Lymphozytenrepertoire zu entwickeln, müssen die Vorläuferzellen, sogenannte Präthymozyten, verschiedenste Entwicklungsstadien im Thymus durchlaufen. Da nur etwa 2% reifer T-Zellen den Thymus verlassen können, liegt eine strenge Selektion während der T-Zellreifung vor, welche über

Tod oder Überleben entscheidet. Ein Regulationspunkt ist im frühen Thymozytenstadium, dem „Doppelt Negativen“ (DN), verankert. Hier entscheidet der auf der Oberfläche befindliche prä-T-Zell-Rezeptor (preTCR), bestehend aus CD44 (β -Kette) und der invarianten Kette pT α , ob ein Eintreten in den Zellzyklus möglich ist. Dieser Kontrollpunkt wird auch als „Beta-Checkpoint“ bezeichnet. Die unreifen T-Zellen verweilen solange in diesem Stadium, bis das richtige α -Ketten-Gen umgeordnet ist und der T-Zell-Rezeptor (TCR), bestehend aus α - und β -Kette, auf der Oberfläche exprimiert werden kann. Erscheinen beide T-Zell-Rezeptoren CD4 plus CD8 zusammen mit CD3 auf der Oberfläche, werden diese T-Zellen nun als „Doppelt Positiv“ (DP) bezeichnet. Etwa 95% erreichen dieses Stadium nicht. Dies unterstreicht die Bedeutung des Kontrollpunktes beim Übergang vom DN- zum DP-Stadium (89).

Als kritischer Gesichtspunkt wird dabei die Regulation der Expression der pT α -Kette betrachtet. Die pT α -Gentranskription scheint bisher vorallem durch den upstream Bereich, dem Enhancer, entscheidend reguliert zu werden. Mehrere Proteine, unter ihnen befindet sich auch YY1, die in der Lage sind, an diesen Bereich zu binden, wurden identifiziert (90). Als weitere Bindungsproteine des Enhancer sind zu nennen: SP1/3, ZBP-89 und c-MYC. Betrachtet man diese Proteine im Zusammenhang mit YY1, kann man schlußfolgern, daß alle, ausgenommen ZBP-89, mit YY1 interagieren, so daß als weiterer Regulationspunkt von YY1 auch die T-Zellreifung angesehen wird. Unterstützt wird diese Annahme durch Befunde von Iritani et. al. (91). Sie konnten zeigen, daß c-MYC allein nicht in der Lage ist, die pT α -Expression zu regulieren. Nur verschiedenste c-MYC Konzentrationen schienen zum Teil einen Einfluß auf den Zellwachstumsarrest im späten DP-Stadium zu haben. Ist YY1 im Thymus

überexprimiert, schaltet er die Transkription pT α an. In umgekehrter Weise, bei Unterexpression, verhindert er die pT α -Transkription. Bei Überexpression oder Unterexpression, sowie Sequenzveränderungen von YY1 können T-Zellen während ihrer Entwicklung in den Arrest geschickt oder aber in ein weiteres T-Zellstadium überführt werden.

Da die T-Zellreifung und deren Selektion bei allen Autoimmunerkrankungen, wie Rheumatoide Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie u.a., entscheidend ist, können neben dem Typ-1-Diabetes auch Autoimmunerkrankungen per se durch YY1 beeinflusst werden, was durch Auf- oder Abregulation von YY1 erreicht wird.

Es wird davon ausgegangen, daß sich die YY1-Sequenz zwischen Typ-1-Diabetiker und gesunden Probanden unterscheidet. Mehrere Sequenzvarianten werden für Typ-1-Diabetiker erwartet, da es neben dem klassischen Typ-1-Diabetiker auch noch weitere Formen für Typ-1-Diabetes existieren, wie zum Beispiel der LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults). Diese Sequenzvarianten sollen als genetischer Marker für die Prädiabetiker genutzt werden. Der Nachweis der Änderung basiert auf der DNA-Sequenzierung, wobei Vollblut gewonnen, DNA bzw. RNA, die umgeschrieben wird in ssDNA, isoliert und dann sequenziert wird.

Parallel dazu wird das Expressionsprofil für Typ-1-Diabetiker erstellt. In Anbetracht der Tatsache, daß die Krankheit eines jeden Typ-1-Diabetikers individuell verläuft, wird erwartet, daß das Expressionsprofil von Proband zu Proband unterschiedlich ist. In Abhängigkeit vom Alter des Probanden, vom Geschlecht, vom Autoantikörperstatus [GAD (Glutamatdecarboxylase), IA-2 (Proteintyrosinphosphatase), ICA (zytoplasmatische Inselzellautoantikörper)] vom BMI, sowie vom HLA-Genotyp (HLA-

DQB1) werden unterschiedliche Expressionsprofile erwartet. Demnach soll eine entsprechende Prophylaxe/Therapie auch individuell zugeschnitten werden. Durch die genetische Heterogenität interagiert YY1 bei jedem Individuum mit einem differenten genetischen Hintergrund, so daß die YY1-Expression zwischen den Individuen großen Schwankungen unterliegen wird.

Eine Abregulation kann über Applikation von Antisense und durch Herstellung spezifischer Antikörper für den jeweiligen Probanden erreicht werden. Die Struktur der Antisense und der Antikörper ergibt sich aus der Sequenzfolge des Probanden. Die zu applizierende Menge der Antisense sowie Antikörper ergibt sich aus dem Expressionsprofil des Probanden (Auf- und Abregulation vgl. M&M).

Daß YY1 selbst als Autoantigen fungiert, liegt nahe, weil bis dato das auslösende Autoantigen für die Zerstörung der Insulin-produzierenden Beta-Zelle immer noch nicht bekannt ist. Liegt eine Bestätigung vor, daß YY1 als Autoantigen fungiert, soll über orale Verabreichung von YY1 Toleranz induziert werden, wie es bei Allergikern durch Hypersensibilisierung bereits erfolgt. Dabei soll für den jeweiligen Probanden oder Probandengruppen die Sequenzvarianten erfaßt und anschließend die mutierte Form synthetisch hergestellt werden, um es oral verabreichen zu können. Damit soll eine Verschiebung des TH1/TH2 Profils erreicht werden, um der autoimmunen Zerstörung entgegenzuwirken.

Daß durch Applikation von nackter cDNA oder DNA die Entstehung eines Typ-1-Diabetes bei BB/OK-Ratten verringert werden kann, zeigten jüngste Ergebnisse einer Pilotstudie. 174 Nachkommen nicht-diabetischer Muttertiere wurde mit 2, 8, 12, 16, 20, 25 und 30 Tagen nackte DNA der Primer K815 und K817, K831 und

K818 (Figur 11) sowie gereinigte PCR-Produkte unter Verwendung der Primer K815 und K817 (Amplifikation genomischer BB/OK-DNA, Intron von YY1, Sequenz 1069 bis 1804) sowie K831 und K870 (Amplifikation von BB/OK-cDNA, Exon 3, 4 und 5, Zinkfinger, Sequenz 911 bis 1125 und 1758 bis 2078) dosisabhängig (100, 200 und 400 ng in 50 μ l) einmal an den o.g. Tagen s.c. appliziert. Darüber hinaus wurden nicht-diabetische BB/OK-Weibchen gezielt angepaart, die bei Spermanachweis and dann am 4., 8., 12., 16. und 18 Schwangerschaftstag mit 100 oder 400 ng nackter DNA (Primer K815/K817) behandelt wurden. Die 24 Nachkommen dieser Mütter und die 174 post-partum behandelten Nachkommen wurden bis zur 30. Lebenswoche auf Diabetesvorkommen beobachtet. Als Kontrolle dienten unbehandelte sowie behandelte BB/OK-Ratten, denen 50 μ l Wasser s.c. im gleichen Alter appliziert wurde. Nach 30 Wochen waren 93% der behandelten (13/14) und 86% der unbehandelten Kontrolltiere (19/22) erkrankt. Eine recht deutliche Senkung der Diabeteshäufigkeit wurde in 2 Versuchsgruppen beobachtet. Die Häufigkeit sank auf 62% (8/13) bei Applikation des Zinkfinger-PCR-Produktes (400 ng) und auf 50% (6/12) bei den Nachkommen, die von dem mit 400ng behandelten Muttertier geboren wurden. Alle übrigen Versuchsgruppen erkrankten mit den der Kontrollgruppen vergleichbaren Häufigkeit (74 bis 100%), wobei eine Dosisabhängigkeit zu beobachten war. Eine weitere Studie zeigte, dass die Applikation von 400ng/50 μ l PCR-Produkt, amplifiziert mit den Primern K831/K870 die Diabetesinzidenz weiter senken konnte. Im Vergleich zur „Wasserkontrolle“ (16/19=84%) erkrankten signifikant weniger BB/OK-Ratten (16/19 vs. 13/27; $p=0.013$) der behandelten Gruppe. Angesichts dieser ersten Ergebnisse wird davon ausgegangen, daß durch eine häufigere und/oder längere Applikation nackter DNA und/oder PCR-Produkten eine Senkung der Diabeteshäufigkeit bei BB/OK-Ratten gegen 0% erreicht werden kann.

Protoonkogene und Krebs

Das c-MYC Gen wurde ursprünglich als zelluläres Homolog des retroviralen v-myc Onkogens in den 70er Jahren entdeckt. Embryonale Lethalität ist das Ergebnis einer Deletion dieses Gens. Das Produkt eines c-MYC Protoonkogens ist das c-MYC Protein, welches - ebenso wie YY1- einen multifunktioneller Transkriptionsfaktor darstellt. Eine entscheidende Rolle spielt c-MYC in der Differenzierung, dem Zellwachstum, Proliferation, Transformation und Apoptosis von Zellen. Die Dysregulationen der c-MYC Expression stehen im Zusammenhang mit abnormen malignen Zellwachstum und somit der Tumorentstehung von Lungenkrebs, Brustkrebs und Darmkrebs. Dies zeigt, daß c-MYC als starker Regulator des Zellwachstums, der Zelldifferenzierung und Zellproliferation ebenso stark kontrolliert wie balanciert werden muß, um die Carzinomentstehung zu verhindern (102-104).

Da YY1 als vielseitiger Regulator in Abwesenheit von dem essentiellen Partnerprotein (MAX) direkt an den C-terminalen Teil des basischen Helix-Loop-Helix (bHLH) Zinkfingers von c-MYC binden kann, spielt YY1 auch bei der Krebsentstehung eine bedeutende Rolle. Hierbei ist YY1 in der Lage, jeden seiner vier Zinkfinger dazu zu benutzen, um an das c-MYC Protein zu binden. Nicht möglich ist es YY1 jedoch, die Verbindung zwischen dem Komplex von c-MYC/MAX zu unterbrechen. Da aber trotz Komplexbildung zwischen YY1 und c-MYC die sequenzspezifische DNA-Bindung von YY1 nicht blockiert wird, ist die Regulation auf DNA-Ebene durch YY1 immer noch möglich.

Das humane c-MYC Gen kodiert zwei Polypeptide (439 und 453 Aminosäuren) mit einem Molekulargewicht von 64 und 67 kDa und ist im Zellkern lokalisiert. Der Translationsstart des größte-

ren Proteins liegt am Ende des ersten Exons, während die kleinere und meist vorherrschende Form des Proteins durch Translation im zweiten Exon initiiert wird.

C-MYC ist ein Transkriptionsfaktor, der basische Helix-Loop-Helix/Leuzin-Zipper Domäne (bHLH-LZ) aufweist, wobei diese konservierten Domänen Bestandteil vieler Transkriptionsfaktoren sind und Protein/Protein, sowie Protein/DNA-Interaktionen vermitteln.

C-MYC ist Teil einer Genfamilie, die noch weitere Mitglieder wie N-, L-, S- und B-myc beinhaltet (105-108).

Die Bindung von c-MYC an die DNA erfolgt über die sogenannte E-Box, eine spezifische regulatorische Sequenz der Basen 5'-CACGTG-3'. Zur Aktivierung der Transkription muß das c-MYC Protein mit dem Partnerprotein MAX heterodimere Komplexe ausbilden (109). MAX gehört ebenfalls zu den bHLH-LZ Proteinen, besitzt aber keine transaktivierende Domäne wie c-MYC (110). Die Heterodimerisierung mit MAX ist essentiell für die Funktionen von c-MYC, wie Regulation des Zellzyklus, Einleiten von Apoptose oder Transformation von Zellen. MAX bildet weiterhin mit den bHLH-LZ Proteinen der MAD-Familie Komplexe. Diese Heterodimere binden ebenfalls spezifisch an E-Boxen und wirken transkriptionsreprimierend über Sin3-vermittelte Rekrutierung von Histondeacetylasen (111).

Demnach sollte durch Ab- oder auch Aufregulation von YY1, bedingt durch seine vielfältigen Interaktionen mit anderen Genen, auch über c-MYC, eine Beeinflussung der Krebsentstehung möglich sein, was durch folgende Beobachtungen unterstrichen wird.

BB/OK-Ratten entwickeln nicht nur einen Typ-1-Diabetes sondern auch Tumore wie eine Langzeitstudie zeigte. 202 BB/OK-Ratten wurden bis zu ihrem natürlichen Tod beobachtet. 87 von den 202 wurden diabetisch. Die verbleibenden 115 Tiere überlebten im Mittel 576 ± 79 Tage. Nur 37% (42/115) wurden älter als 400 Tage. Die Mehrzahl der Tiere (73/115) starb zwischen dem 200. und 400. Lebenstag vornehmlich an Tumoren (50/115). Betroffen waren Leber, Lymphknoten, Lunge, Darm, Pankreas und Milz (112). Analog wurde eine Studie mit BB.6S-Ratten durchgeführt. 47 Tiere wurden bis zum 600. Lebenstag beobachtet. 6 von 47 Ratten (12,8%) wurden bis zur 30. Lebenswoche diabetisch, 2 weitere Tiere manifestierten im Alter von 437 und 560 Tag. 62% der Tiere (24 von 39 nichtdiabetischen Tieren) überlebten den Beobachtungszeitraum von 600 Tagen. 6 Tiere starben, ohne makroskopisch eine Todesursache feststellen zu können. 9 Tiere mußten auf Grund ihres schlechten Allgemeinzustandes getötet werden, wobei als Todesursache in 7 Fällen Darmverschluß und bei 2 Tieren Tumore in der Leber diagnostiziert wurden. Demnach überleben die kongenen BB.6S-Ratten signifikant länger als BB/OK-Ratten und die Tumorraten ist signifikant niedriger bei BB.6S als bei BB/OK (50/115 vs. 2/39, $p < 0.0001$). Angesichts dieser Befunde, scheint die ausgetauschte Region und damit YY1 bei BB.6S-Ratten die Tumorentstehung deutlich zu senken und die Lebenserwartung zu erhöhen. Demnach sollte durch Abregulation von YY1 die Tumorentstehung verhindert und die Lebenserwartung gesteigert werden können.

Lipidstoffwechsel

- Steroidhormonsynthese

Steroide werden in spezialisierten Zellen der Nebennieren, Eizellen, Hoden, Placenta und im Gehirn synthetisiert. Sie sind

essentiell für die Aufrechterhaltung der normalen Körperhomöostase. Die Synthese aller Steroidhormone beginnt mit der Umwandlung von Cholesterol in Pregnenolon. Dies ist der erste enzymatische Schritt, der an der Matrix der innermitochondrialen Membran erfolgt.

Das Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) spielt eine Schlüsselrolle im Transport von Cholesterol von der äußeren zur innermitochondrialen Membran. Dieser Transport ist der ratenlimitierende Schritt in der Steroidogenese. Mutationen im StAR-Gen verursachen die potentiell lethalen Bedingungen, die als congenital lipoid adrenale Hyperplasie bekannt sind. Gleiche Beobachtungen konnten an StAR-Knock-out Mäusen gemacht werden (131).

StAR-Expression kann durch Agenzien positiv und negativ reguliert werden, die vorwiegend am Promotor wirken. Die hormonstimulierte Steroidsynthese ist begleitet von einem schnellen Anstieg der StAR-mRNA-Spiegel. cAMP hat einen positiven und schnellen Effekt auf den Anstieg der StAR-mRNA, scheint aber nicht direkt an der Promotorsequenz zu wirken.

Der erste Transkriptionsfaktor als potentieller Regulator des StAR-Gens war der Steroidogenic factor 1 (SF 1), auch Orphan Nuclear Rezeptor Transkriptionsfaktor genannt.

Der StAR-Promotor besitzt verschiedene Consensus-Bindungssequenzen für SF 1. Zwei von diesen an Position -97 und -42 sind hoch konserviert. Eine weitere an Position -132 wurde nur in Mäusen und Ratten gefunden.

Ein weiterer Kandidat ist das CCAAT/enhancer Bindungsproteine (C/EBPs), das zur Familie der bRegion/leucine zipper Tran-

skriptionsfaktoren gehört. Zwei Mitglieder dieser Familie werden in steroidogenen Zellen exprimiert (C/EMP α und C/EMP β). Der StAR-Promotor hat zwei mögliche Bindungsstellen für C/EMP. SF 1 und C/EMP bilden einen Komplex am StAR-Promotor.

Sowohl der humane als auch der Ratten-StAR-Promotor besitzt weiterhin Bindungsstellen für SREBP-1a (Sterol regulatory element binding protein-1a). SREBP-1a ist ein bedeutender Aktivator für den StAR-Promotor.

Weitere Transkriptionsfaktoren wie SF 1, NF-Y, YY1, und SP1 sind in die Wirkung von SREBP am StAR-Promotor involviert. SREBP-1a reguliert koordinierend zusammen mit den anderen Faktoren den StAR-Promotor.

CREB kann ebenfalls binden und auf schnelle Weise die Transkription aktivieren (cAMP Bindung).

DAX-1 bindet direkt an der Hairpin-Struktur des StAR-Promotors sowie direkt an SF-1 und inhibiert in beiden Fällen deren Expression (131).

Wenn SREBP-1a eine koordinierende Rolle in der Bereitstellung von Cholesterol in der Steroidhormonsynthese übernimmt, kommt ihm eine essentielle Bedeutung in der Cholesterolhomöostase zu. Der StAR-Promotor der Ratte besitzt 5 sogenannte SRE-Bindungsstellen (Sterol Regulatory Element), an die die aktivierte Form von SREBP-1a binden und die Transkription aktivieren kann (132). Eine weitere SRE-Bindungsstelle wurde im humanen StAR-Promotor gefunden, an die sowohl SREBP-1a als auch YY1 binden kann und bedingungsabhängig bei hohen Konzentrationen von SREBP-1a aktiv ist (133).

SREBPs gehören zur Familie der basic helix-loop-helix leucine zipper (bHLH-Zip) Transkriptionsfaktoren, die als 125 kDa membrangebundene Precursor-Proteine im endoplasmatischen Retikulum synthetisiert werden und bei Sterolmangel in der Zelle durch enzymatische Abspaltung der 68 kDa N-terminalen, die bHLH-Zip Domäne enthaltenden Region des Proteins aktiviert werden und in den Nucleus einwandern. Dort binden sie spezifisch an die DNA-Sequenz von SRE (sterol regulatory element) und aktivieren die Transkription ihrer Zielgene (134, 135).

Es wurden bisher drei SREBPs beschrieben, die SREBP-1a, SREBP-1c und SREBP-2 genannt werden. SREBP-1a und -1c werden vom gleichen Gen unter Nutzung alternativer Promotoren exprimiert. SREBP-2 wird von einem separaten Gen exprimiert (135, 136).

Cholestolgene, die klassische SRE-Bindungsstellen in ihren Promotoren besitzen, werden stark und effektiv von SREBP-1a und SREBP-2 aktiviert. SREBP-1c ist inaktiv für diese Bindungsstellen.

SREBP-1c, auch ADD 1 genannt, weist eine Besonderheit auf. Es bindet an E-Boxen (universelle cis-Elemente für bHLH-Proteine). Damit weist es eine duale Bindungsspezifität zu beiden, den klassischen palindromen E-Boxen und den nonpalindromen SREs, auf. Diese einmalige Bindungsspezifität ist auf den Thyrosinrest in der basischen Region zurückzuführen, der einmalig für die SREBP-Familie ist, denn alle bekannten bHLH-Proteine besitzen an dieser Position Arginin (136). Dieser Austausch zerstört die Transaktivität aller SREBPs für SRE-Bindungsstellen, erhöht aber markant die Aktivität von SREBP-1 für Bindung an E-Boxen (siehe SREBP-1c) aber auch von SREBP-2. Dieses ist jedoch inaktiv und aktiviert das Zielgen nicht (136).

Die SREBPs sind unterschiedlich starke Transkriptionsfaktoren und benötigen meist Cofaktoren. Solche sind NF-Y, SP1, CBP (CREB-Bindungsprotein).

SREBP-Zielgene werden in 2 Gruppen eingeteilt (136):

- Cholesterol-Biosynthese-Gene
 - HMG-CoA-synthase und -reduktase
 - Farnesyl-diphosphatsynthase
 - Squalensynthase
 - SREBP-2
 - LDL-Rezeptor
 - HDL-Rezeptor (137)

Alle enthalten die klassische SRE-Sequenz (ATCACCCAC) oder das SRE 3 Motif (CTCACACGAG) und angrenzende Cofaktor-Bindungsstellen für NF-Y oder SP1 in ihren Promotoren.

- Lipogene Enzym-Gene

Sind nahrungsreguliert auf der Transkriptionsebene (z.B. Glukose, Insulin)

- Acetyl-CoA-Carboxylase
- Fettsäuresynthase (FAS, erhöht TG)
- Steryl-CoA-Saturase 1 und 2
- Glycerol-3-phosphat-Acyltransferase
- Diacepam-binding Inhibitor (Acyl-CoA-Bindungsprotein)
- Spot 14 (Leberenzym S 14)

Die SREBP-Bindungs- und -Aktivierungsstellen in den Promotoren dieser Gene scheinen sich von den klassischen SRE-Consensus-Sequenzen zu unterscheiden und werden als SRE-like-Sequenzen bezeichnet.

Einige weitere Enzyme wie Liver-Type-Pyruvatkinase (PK) und Glukokinase (GK) enthalten E-Box oder E-Box-like Sequenzen im Promotor, was bedeuten kann, daß sie Kohlenhydrat, Glukose- und Insulin-sensitiv sind und potentiell SREBP-Targets sein können.

Alle aktiv wachsenden Zellkulturen produzierten prädominant SREBP-1a und SREBP-2, wogegen die meisten Organe einschließlich Leber von adulten Tieren SREBP-1c und SREBP-2 produzieren. Alle SREBPs sind in der Lage, jedes der bekannten Zielgene zu aktivieren, jedoch mit unterschiedlicher Effizienz. SREBP-1c ist schwächer (kürzere Transaktivierungsdomäne) als SREBP-1a und SREBP-2.

Die spezifische Rolle der SREBP-Isoformen in vivo wurde in transgenen Mäusen untersucht. Die differente Überexpression ergab, daß die SREBP-1-Isoformen selektiv die Fettsäurebiosynthesegene aktivieren und SREBP-2 spezifisch die Cholesterolsynthese kontrolliert.

SREBP-1a und -1c spielen eine große Rolle in der nahrungsabhängigen Induktion hepatisch lipogener Enzyme und der Cholesterogenese. SREBP-2 dagegen bestimmt die Sterolregulation durch Abbau des membrangebundenen Precursor-Proteins, um die aktive Form für die Einwanderung in den Nukleus bereitzustellen. SREBP-1 kontrolliert lipogene Enzyme durch Selbstregulation seines eigenen Transkriptionslevels.

Der Fakt, daß die SREBPs relativ schwache Transkriptionsfaktoren sind und Cofaktoren benötigen, wurde bereits erwähnt. Bennett et.al.(138) zeigten beispielsweise, daß die Aktivierung der SREBPs durch Sterolmangel in vivo in einer erhöhten Bin-

dung von SP1 an einer, an die SREBP-Bindungsstelle angrenzenden Sequenz im Promotor für das LDL-Rezeptorgen bindet. Ähnlich werden die zwei coregulierenden Faktoren NF-Y und CREB (cAMP Responsive Element Binding Protein) verstärkt an den Promotor von HMG CoA-Reduktase gebunden. SREBP-Aktivierung erhöht die Histonacetylierung von H 3, nicht aber von H 4 im Chromatin beider Promotoren (HMG-CoA-Synthase und -Reduktase). Die Resultate zeigen, daß feine Differenzen im Muster der Kern-Histon-Acetylierung eine Rolle in der selektiven Genaktivierung spielen. Das zeigt, daß die Bindung der Transkriptionsfaktoren an die DNA eine notwendige, aber nicht ausreichende Bedingung für die Transaktivierung ist (138).

SREBP-1 kann einige andere E-Box oder E-Box-like-Sequenzen im FAS-Promotor und im S14-Promotor aktivieren, ist aber völlig inaktiv für degenerierte E-Box-Sequenzen z.B. im PK Promotor. Promotoren mit SRE-Bindungsstellen benötigen unbedingt NF-Y oder SP1 als Cofaktoren für die SREBP-Aktivierung. SREBP-1 hat eine wesentlich höhere Affinität und ist effizienter in der Aktivierung von SRE enthaltenden Promotoren als von E-Box enthaltenden Promotoren.

In lipogenen Enzymen, die Promotoren mit SRE-like-Sequenzen enthalten, aktivieren alle Isoformen von SREBP die Transkription (SREBP-1a stärker als SREBP-1c, SREBP-1a bevorzugt gegenüber SREBP-2). Die Bindung der SREBP-Isomeren an die verschiedenen Bindungsdomänen der Genpromotoren (136) ist in Fig. 6 dargestellt.

- Einfluß von YY1 auf die Regulation der lipogenen Gene

YY1 ist bekannt als Transkriptionsmodulator, der sowohl als Enhancer und Repressor aber auch als Initiator-Bindungsprotein

wirken kann, was von der Herkunft der Zelle und den Bindungsstellen des Promotors abhängig ist. YY1 ist auch in der Lage, den gleichen Promotor zu aktivieren und zu hemmen, wenn das intrazelluläre Milieu verändert ist, das Bindungselement im Promotor mutiert (verändert) ist, oder die Bindungsstelle umgebende DNA-Sequenz alteriert ist.

In Hinblick auf die betrachteten Gene lassen sich folgende Einflüsse von YY1 folgern.

YY1 besitzt eine hohe Affinität zu SREBP-1a. Im StAR-Promotor befindet sich eine YY1-Bindungsstelle, die mit der proximalen Bindungsstelle für SREBP-1a überlappt. Die gleichzeitige Bindung von SREBP-1a und YY1 am StAR-Promotor reprimiert dessen Transkription. Dieser Fakt beeinflusst wiederum den Cholesteroltransport und somit die Steroidhormonsynthese.

YY1 wirkt als Aktivator spezifischer Repressor, konkurriert mit den Bindungsstellen der SREBPs und deren Cofaktoren bzw. behindert sterisch die Bindung der SREBPs z.B. an SREs der lipogenen Gene. Er wirkt sowohl als Typ-I-Repressor (Bindung an Cofaktoren, Komplexbildung) als auch als Typ-II-Repressor (direkte Bindung an die DNA, sterische Blockierung von Bindungsstellen). Durch Mutation der Bindungsstelle in YY1 konnte nachgewiesen werden, daß die SREBP-1a Aktivierung des StAR-Promotors um ein Vielfaches anstieg. Untersuchungen an transfizierten HepG2 Zellen ergaben, daß YY1 Mutanten (YY Δ 296-331, YY Δ 399-414, YY Δ 334-414 oder YY Δ 154-199) z.B. die sterolaktivierte Expression des LDL-Rezeptor und FPPS-Rezeptors nicht reprimierte. Die Mutationen YY Δ 334-414 oder YY Δ 154-199 verhindern die nukleare Lokalisation, die DNA-Bindung und die Interaktion mit CBP. YY Δ 296-331, YY Δ 399-

414 waren inaktiv bei der Repression der SREBP-1a abhängigen Induktion der Expression des HMG-CoA Synthase-Promotors (134).

Zahlreiche weitere Promotoren der sterolregulierten Gene enthalten potentielle Bindungsstellen für YY1 (CCAT oder ACAT) überlappend oder angrenzend an Bindungsstellen der Coaktivatoren bzw. Transkriptionsaktivatoren. Diese können durch YY1 verdrängt oder blockiert und damit die Genexpression reprimiert werden (vgl. Fig. 7).

Nach dem gleichen Prinzip werden auch die anderen Promotoren durch YY1 reprimiert.

HDL-Rezeptor	→	positiv reguliert durch SREBP-1a plus SP1 ↔ YY1 (Repr.)
LDL-Rezeptor	→	positiv reguliert durch SREBP-1a plus SP1 ↔ YY1 (Repr.)
Fettsäuresynthase		
Farnesyl Synthase	→	positiv reguliert durch SREBP-1a plus NF-Y ↔ YY1(Repr.)
HGM-Co A Synthase		

HGM-CoA-Reduktasegenexpression wird durch YY1 nicht reprimiert.

Der Synergismus der Bindung von SREBP und NF-Y bzw. SP1 an Promotoren der SREBP-responsiven Gene, einschließlich SREBP-2, führt zur Aktivierung der Transkription, die die Cholesterolumöostase (LDL-Rezeptor, HDL-Rezeptor, HMG-CoA-Synthase und -Reduktase, FPP(Farnesylphosphat)-Synthase, Squalensynthase) die Fettsäuresynthase (Fettsäuresynthase und AcetylCoA-Acetylase), den Fettsäureabbau (Stearyl-CoA-Desaturase) und die Triglyceridsynthese (Glycerol-3-phosphat-Acetyltransferase) kontrolliert (134).

YY1 kann über die o.g. Mechanismen in diese Prozesse eingreifen. YY1 kann auch durch Interaktion mit SREBP-1a die Erkennung der Domäne auf SREBP-1a für die RNA-Polymerase-II behindern und damit die Transkription reprimieren, was einen weiteren regulatorischen Mechanismus der Transkriptionsregulation darstellt (134).

Beeinflussung der SREBP Aktivierung bei verschiedenen Erkrankungen

In hepatischen Zellen wird vorwiegend SREBP-1c exprimiert, das in diesen Zellen auch durch Glukose und Insulin sowohl auf mRNA als auch auf Proteinebene stimuliert wird (139).

Bei experimentellem Streptozotozin-Diabetes von Ratten wurde eine massive Erhöhung der Expression von SREBP-1a und Fettsäuresynthase gefunden. Daraus resultierte eine starke Triglyceridakkumulation (TG). Behandlung mit Insulin konnte beides senken. In Nierenzellen war bei hoher Glukose die Expression von SREBP-1a und -1c mRNA und Proteinsynthese erhöht ebenfalls die Fettsäuresynthase und damit die TG-Akkumulation. SREBP-1-Expression ist bei Diabetes mellitus erhöht. SREBP-1 spielt eine bedeutende Rolle in der Erhöhung der Lipidsynthese, TG-Akkumulation, mesangialen Expansion, Glomerulosklerose und Proteinurie, indem es die Expression von TNF β und des vaskulären Endothelwachstumsfaktors erhöht (140).

Bei Typ-2-Diabetikern wurde eine signifikante Verminderung der SREBP-1-Expression im subkutanen Fettgewebe und im Skelettmuskel gefunden. Ex vivo konnte dieser Effekt durch TNF α behoben werden (141).

Daher kann durch Auf- bzw. Abregulation von YY1 der Lipidstoffwechsel entsprechend beeinflußt werden wie nachfolgende Ergebnisse bestätigen.

Wie eingangs bereits erwähnt, unterscheiden sich BB/OK- und BB.6S-Ratten nicht nur signifikant in der Diabeteshäufigkeit und Manifestationsalter. Im Alter von 12 Wochen sind BB.6S-Ratten im Vergleich zu BB/OK auch schwerer und das Serumgesamtcholesterol ist bei männlichen und weiblichen Tieren und die Serumtriglyzeride sind bei Weibchen signifikant erhöht (24). Nach der 24. Lebenswoche sind auch die Serumtriglyzeride bei den männlichen BB.6S-Ratten signifikant gegenüber BB/OK erhöht. Auf Grund dieser Befunde lag der Schluß nahe, daß YY1 auch im Fettstoffwechsel involviert ist. Daher wurde in einer Pilotstudie geprüft, inwieweit die Applikation von YY1-Antisense der 4 Zinkfinger die Lipide beeinflussen kann. 10-12 männlichen Ratten der Stämme BB/OK, LEW.1A, LEW.1W, WOKW und SHR wurden 600ng/100µl Antisense für 2 Wochen, beginnend in der 9. Lebenswoche, appliziert. Die Serumtriglyzeride (TG), -gesamtcholesterol (Chol) und - HDL-Choelesterol (HDL) wurden vor (8. Woche) und nach Applikation (10. Woche) bestimmt. Die genetisch und phänotypisch differenten Stämme reagierten erwartungsgemäß unterschiedlich wie nachfolgend zusammengestellt ist.

Stamm	TG	Chol	HDL	HDL/Chol- Ratio#
BB/OK	↑*			↑**
BB.LL	↑*			
LEW.1A		↓**	↓*	↑*
LEW.1W		↓**	↓**	
SHR	↓*	↓**	↓**	↑**
WOKW		↓**	↓**	

↑ ↓ signifikant erhöht bzw. erniedrigt. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

HDL/Cholesterol-Ratio

Interessanterweise erkrankten von den 12 BB/OK-Ratten bis zur 30. Lebenswoche nur 7 Tiere (58%), was den diabetesprotektiven Effekt von Yy1-PCR-Produkten erneut unterstreicht (s.S.32).

Wie für den Typ 1 Diabetes beschrieben sollte es in Abhängigkeit vom Expressionsprofil der Probanden möglich sein, auch die Blutfette zu beeinflussen (vgl. Material & Methoden-Teil).

Vitamin D, Calciumstoffwechsel und Entwicklungsprozesse

Vitamin D gehört neben dem Parathormon (PTH), Calcitonin (CT) und dem PTH related Peptide (PTHrP) zu den Hauptregulatoren des Calciumstoffwechsels. Seit 1966 ist bekannt, daß Vitamin-D in einer aktiven Form vorliegen muß, um seine funktionelle Aufgaben wahrnehmen zu können (143). Die aktive Form entsteht durch die Hydroxylierung am C25 sowie am C1 Atom. Bezeichnet wird diese Form als 1,25-Dihydroxycholecaliferol oder als Vitamin-D₃. Eine Aufgabe des Calciferols besteht darin, der Absenkung des Plasmacalciumspiegels entgegen zu wirken. Erreicht wird dies über eine vermehrte intestinale Calciumresorption,

durch gesteigerte renale Calciumresorption und durch gesteigerte Calciummobilisation aus dem Skelettsystem (144). Die intestinale Resorption benötigt ein aktives Transportsystem (Calcium bindende Proteine, Calbindin), das nur in Anwesenheit von Vitamin-D₃ zu finden ist. Darüber hinaus ist Vitamin-D₃ auch für die Erhaltung der Funktionsfähigkeit der intestinalen Mucosazellen verantwortlich. Calbindine, Osteocalcin, Matrix-Gla-Protein, Osteopontin, Kollagen Typ I etc. werden durch Calciferol induziert. Einfluß auf die Proliferation, Differenzierung, Hormonsekretion und Apoptose werden auch durch Calciferol ausgeübt. Die Bedeutung des Vitamin-D₃ wird an Mangelerscheinungen, sogenannten Hypovitaminosen (Rachitis, Osteomalazie) deutlich (144).

Mit der Entdeckung des Vitamin-D-Rezeptors (VDR; 145, 146) konnte der Wirkmechanismus untersucht werden. Mit Hilfe des VDR konnte gezeigt werden, daß Vitamin-D im Kern von Keratinozyten der Haut, Langerhansschen Inseln des Pankreas, Lymphozyten, Promyelozyten etc. lokalisiert ist. Die aktive Form des Vitamin-D ist lipophil, so daß es über Diffusion durch die Zellmembran in die Zelle und weiter in den Zellkern gelangt und dort mit hoher Affinität an seinen Rezeptor bindet. Der VDR gehört zu der Familie der ligandengesteuerten Transkriptionsfaktoren. Nach Aktivierung durch seinen Liganden, moduliert VDR die Transkription solcher Genabschnitte, die ein dem Rezeptor zugeordnetes DNA-Element tragen, die sogenannten Hormone-Response-Elemente (HRE). Für den VDR werden diese Genabschnitte Vitamin-D-Response Elemente (VDREs) genannt. Gene, die VDRE enthalten, sind u.a. Osteocalcin (OC), Calbindin D9k (CALB3) und D28k (CALB1), Vitamin-D 24-Hydroxylase (CYP24), Osteopontin (OPN), atriale natriuretische Peptid (ANP), Parathormon (PTH), Carbonanhydrase II (CA-II), Integrin, beta-3 (ITGB3), Fibronectin (FN1), c-fos, Parathormon-related Peptid

(PTHrP), „slow myosin heavy chain 3“ (slowMyHC3), gewebespezifischer Plasminogenaktivator (t-PA), Wachstumsfaktor 1 (PIT1; POU1F) und Involucrin (IVL).

Die Studie von DeLuca et al. (147) zeigte, daß sich die aktive Form des Vitamins auch in Lymphozyten (CD4 und CD8), insbesondere in aktivierten T-Lymphozyten befindet. Immunsuppression von Autoimmunkrankheiten konnte auf die aktive Form von Vitamin-D₃ und Ca²⁺ zurückgeführt werden. Da im Rahmen der vorliegenden Erfindung gezeigt werden konnte, daß bei Ca²⁺-reicher Diät die Diabetesinsidenz von BB.6S-Ratten von 15 auf 45% erhöht werden kann, muß hier ein weiterer Regelmechanismus von YY1 existieren.

Guo et al. (148) konnte erstmals die Rolle von YY1 im Calciumstoffwechsel für das Osteocalcingen zeigen. YY1 reprimiert die 1,25-Dihydroxcholecalciferol vermittelte Transaktivierung des knochenspezifischen Osteocalcingens. Aufgrund der Interaktion von YY1 mit beiden Komponenten, VDR und Transkriptionsfaktor IIB (TFIIB), ist er in der Lage, die von Vitamin-D abhängigen Transkriptionen zu regulieren. Darüber hinaus konkurriert das VDR/RXR (Retinoid X Receptor)-Heterodimer mit YY1 um die Bindungsstellen der VDR-Elemente im Osteocalcingen. Da VDREs in vielen Genen vorhanden sind, übernimmt YY1 dort weitere regulatorische Rollen.

Zusätzlich ist es YY1 möglich, bereits in die Synthese von Calciferol einzugreifen. Durch die Repression der Transkription des Enzyms, 25-Hydroxyvitamin-D₃-24-hydroxylase [24(OH)ase; CYP24], ist der Katabolismus gestört. Eine erhöhte Repression konnte in Anwesenheit von TFIIB oder CBP (CREB-Binding-Protein) festgestellt werden (149). Darüber hinaus konnte bei transgenen Ratten, bei denen CYP24 überexprimiert wurde, ge-

zeigt werden, daß diese Tiere eine Albuminurie und Hyperlipidämie entwickelten. Eine Beobachtung, die in diesem Zusammenhang an die erhöhten Blutfette der BB.6S-Ratten im Vergleich zum Parentalstamm, der BB/OK-Ratte, erinnert. Auch entwickelten diese transgenen Ratten atherosklerotische Läsionen an der Aorta (150).

Daß der VDR im Zusammenhang mit dem Typ1-Diabetes steht, konnte von der Gruppe Chang et al. (151) gezeigt werden. Als direkter negativer Faktor fungiert die aktive Form von Vitamin-D auch im Renin-Angiotensin-System. Dieses System spielt eine wichtige Rolle in der Regulation des Flüssigkeits- und Elektrolythaushalts und somit auch in der Blutdruckkontrolle. Bei Abweichung des Vitamin-D-Levels kommt es zur direkten Inhibition der Renin-Gen-Expression. Somit spielt Vitamin-D nicht nur als Regulator bei der Aufrechterhaltung der Calcium-Hömostase eine Rolle sondern auch im Hömostase-Prozess der Elektrolyte, dem Blutvolumen und Blutdruck (152). Unterstützend dazu kann die Studie von Bhalla et al. (153) herangezogen werden. Man konnte zeigen, daß YY1 synergistisch mit GATA-4 als transkriptioneller Komplex über CBP/p300 die „brain natriuretic“ Peptid (BNP)-Gen-Transkription aktiviert. BNP gehört zur Familie der natriuretischen Peptide, die aus 3 Peptiden (atriale natriuretische Peptid, ANP; BNP; natriuretische Peptid Typ C, CNP) besteht. Ihre Hauptwirkung liegt in einer Zunahme der Natriumausscheidung, in einer Gefäßerweiterung (Vasodilatation) und in einer Abnahme der Aldosteronsekretion (wichtigstes Mineralocorticoid, beeinflusst den Natrium-, Kalium- und Wasserhaushalt in sämtlichen Geweben), womit sie den eigentlichen Gegenspieler des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems darstellen. GATA-4 gehört zu der Familie der GATA-Zink-Finger-Transkriptionsfaktoren und ist im adulten Gewebe des Herzens, im Darmepithel und Gonaden exprimiert. Während

der Fetalentwicklung ist GATA-4 bei der Herzformation beteiligt. Daher fungieren GATA-4 als auch YY1 gleichermaßen als Schlüsselement bei der myocardialen Differenzierung und Funktion. Beide beeinflussen zahlreiche Herz-Gene (154-158). Unter Anderem konnte gezeigt werden, daß YY1 in Verbindung mit der Hypertrophy in Herzmyocyten (über IL1 β vermittelt) steht (159).

In Anbetracht der bisher vorliegenden Arbeiten, sowie eigener Ergebnisse (s.o.), kann der Schluß gezogen werden, daß YY1 in den Calciumstoffwechsel selbst eingreift oder aber durch Calcium (und deren Komponenten) beeinflusst wird. Außerdem kann davon ausgegangen werden, daß YY1 eine wesentliche Rolle bei der Blutdruckregulation und Muskelkontraktion zukommt. Daher soll je nach betroffenem Gewebe und in Abhängigkeit vom Geschlecht YY1 ab- oder aufreguliert werden.

Mit Hilfe von Maus-Embryonen konnte dargestellt werden, daß YY1 in dem Entwicklungsprozess von Knochen eine bedeutende Rolle hat. Er ist in der Lage das MSX2 Gen zu aktivieren (160). MSX2 gehört zu der Klasse der Homöobox-Genen und wird in zahlreichen Geweben von Embryonen exprimiert. Als Schlüsselmediator ist MSX2 während verschiedenster Entwicklungsprozesse, wie zum Beispiel bei der Formation von Schädel, Zähnen, Augen, sowie in der cranio-facialen Morphogenese beteiligt. Er ist involviert in der epithelialen-mesenchymalen Interaktion und Apoptose (161-165). Bei Dysregulation des Expressionslevel von Mx2 konnte abnormes Wachstum festgestellt werden. Zwei Faktoren, BMP4 (Bone Morphogenetic Protein Typ 4) und YY1 regulieren die Expression von MSX2 in embryonalen Geweben (166). Unabhängig von BMP4 ist YY1 im Stande an drei Stellen des Promotors von MSX2 zu binden und somit zu aktivieren (160). Die Involvement von YY1 in die Prozesse der Embryogenese, Neuro-

nal-, Skelettmuskel- und Knochenentwicklung läßt den Schluß zu, daß YY1 mit Sicherheit bei Mutation oder Fehlregulation an Erkrankungen der Muskeln, Knochen und dem Gehirn entscheidend beteiligt sein wird (167). Daher kann auch hierbei je nach betroffenem Gewebe und in Abhängigkeit vom Geschlecht, YY1 ab- oder aufreguliert werden.

Nutzung der Erkenntnisse

1. Diagnostik

DNA-Sequenz und Genexpression

Ausgehend von der vorliegenden YY1 Sequenz werden unter Verwendung der in Fig. 11 aufgeführten Primer Sequenzänderungen in YY1 zur Diagnose von möglichen Fehlleistungen genutzt. Dazu wird genomische DNA und ssDNA aus mononukleären Blutzellen mit den Primern amplifiziert und sequenziert bzw. Punktmutationsanalysen (SNPs) durchgeführt (vgl. Kwok P.Y. SNP genotyping with fluorescence polarisation detection. Hum. Mutat. 19, 2002, 315-323).

Darüber hinaus wird RNA aus mononukleären Blutzellen und Gewebe durch Biopsie (Muskel, Fettgewebe, Haut) bzw. durch Punktion von Niere und Leber gewonnen, umgeschrieben in ssDNA und sequenziert (Umschreibung in ssDNA) sowie zur Genexpressionsanalyse eingesetzt, wie oben beschrieben (vgl. S.22/23, "Genexpressionsstudien"). Es wird davon ausgegangen, daß in den Geweben unterschiedliche Expressionsmuster und auch Spleißvarianten (s. verkürzter Zinkfinger bei BB.6S in Leber, Pankreas und Hirn) auftreten können und wichtige Hinweise zur Regulation von YY1 in den Geweben und zur Erkrankung geben.

Diese Gewebe kommen in Betracht, da beim Typ-1-Diabetes diabetische Folgeerkrankungen auftreten können, die sich in verschiedenen Geweben manifestieren (diabetische Nephropathie, Retinopathie, Neuropathie etc.). Folgeerkrankungen sind u.a. Fettstoffwechselstörungen (Fettgewebe, Leber), Bluthochdruck (Niere), Herz-Kreislaufkrankungen (Muskelgewebe) aber auch dermatologische Erkrankungen (Haut). Da nicht alle Diabetiker gleichermaßen an allen Folgeerkrankungen leiden, wird erwartet, daß das Expressionsprofil von Proband zu Proband unterschiedlich ist.

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

Um serologische Tests zur Diagnostik durchführen zu können, kann die Sequenz genutzt werden, um verschiedene ELISA-Verfahren zu etablieren. Dafür werden monoklonale und polyklonale Antikörper erzeugt.

Herstellung von polyklonalen und monoklonalen Antikörpern (s. Ref. 89)

Es werden erfindungsgemäß polyklonale Antikörper gegen YY1 hergestellt. Zur Erzeugung können Kaninchen genutzt werden.

Das Protein YY1, synthetisch hergestellt und individuell für den Probanden, wird mit einem sogenannten vollständigen Freundschens Adjuvans versetzt. Das Adjuvans schützt das Protein YY1 vor der Degradierung. Das Freundsches Adjuvans besteht aus einer Mischung von Paraffinöl und Manidmonooleat, der inaktivierte und getrocknete Tuberkulosebakterien (*Mycobacterium tuberculosis*) zugesetzt wurden. Dies bewirkt im Tier eine allgemeine Immunreaktivität, die primäre Immunantwort. Das Gemisch wird intradermal, subkutan oder intramuskulär ins Kanin-

chen injiziert. Nach ungefähr vier bis sechs Wochen wird das gleiche Protein mit inkompletten Adjuvans (Bakterien fehlen) erneut injiziert, um eine sekundäre Immunantwort auszulösen. In Abhängigkeit vom Antikörpertiter wird das Tier entblutet und das Antiserum gewonnen.

Für die Herstellung monoklonaler Antikörper (mAK) wird die von Köhler und Milstein entwickelte Hybridoma-Technik angewandt.

Mäuse werden mit dem YY1-Protein, daß in Abhängigkeit von der DNA-Sequenz des Probanden synthetisch hergestellt wird, immunisiert. Die antikörperproduzierenden Milz-Lymphozyten werden anschließend in Kultur mit Myelomzellen (Krebszellen) fusioniert in Anwesenheit von Polyethylenglykol. Nach Fusionierung werden die sogenannten Hybridome in Mikrotitertestplatten (0,2 ml Volumen) verteilt und mit dem HAT (Hypoxanthin-Aminopterin-Thymidin) -Selektionsmedium kultiviert. Das Medium gewährleistet, daß nur Hybridome wachsen. Nach 10 Tagen Kultur werden die Hybridome vereinzelt und in Kultur weitervermehrt. Die mAK werden aus den Zellkulturüberständen isoliert.

Reinigung der Antikörper (Affinitätschromatographie) (s. Ref. 89)

Da Antiseren neben den spezifischen Immunglobulinen, die gegen YY1 gerichtet sind, noch weitere Antikörper enthalten, soll mittels einer Affinitätschromatographie die Aufreinigung erfolgen. YY1 wird dabei an eine feste Matrix gebunden. Nur Antikörper, die spezifisch gegen YY1 gerichtet sind, binden. Alle anderen Antikörper passieren die Säule. Die spezifischen Antikörper werden durch pH-Wert Veränderung (auf 2,5 oder über 11) von YY1 eluiert.

Diese spezifisch aufgereinigten Antikörper gegen YY1 können dann in weiteren Schritten im ELISA-Verfahren oder Western blot genutzt werden.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher auch Antikörper, die gegen ein vorgenanntes Protein oder Peptid der Erfindung gerichtet sind. Vorzugsweise handelt es sich bei den Antikörpern um monoklonale Antikörper.

In diesem Zusammenhang dienen auch Sandwich-ELISA zum Antigen-nachweis, und geeignet ist auch der Nachweis spezifischer Antikörper gegen ein Antigen mittels enzymmarkierten Sekundärantikörpern.

Etablierung der ELISA-Verfahren (s. Ref. 89)

Nachweis spezifischer Antikörper gegen YY1 mittels enzymmarkierten Sekundärantikörpern

Synthetisch hergestellte YY1-Proteine werden an einen festen Träger (Kunststoffoberflächen, Mikrotiterplatte) gekoppelt. Anschließend wird das zu untersuchende Probandenmaterial (Serum) überschichtet. Spezifisch gegen YY1 gerichtete Antikörper im Serum befindlich, binden. Ungebundene Komponenten werden heruntergewaschen. Mittels eines Sekundärantikörpers, chemisch mit einem Enzym markiert, wird in der Farbreaktion das Substrat umgewandelt. Anhand eines mitgeführten Standards kann dann, nach Erstellung der Eichkurve, direkt mit der Antikörperkonzentration korreliert werden.

Sandwich-ELISA (Antigennachweis) (s. Ref. 89)

Die Antikörper, spezifisch gegen YY1 gerichtet, werden an einen festen Träger (Kunststoffoberflächen, Mikrotiterplatte) gebunden. Im Anschluß daran wird das Probandenmaterial überschichtet. Die YY1-Proteine binden spezifisch an den Antikörper. Ungebundene Komponente werden heruntergewaschen. Mittels monoklonaler Antikörper und eines Anti-Antikörpers (Enzym-markiert) wird die Menge an YY1-Proteinen ermittelt.

Westernblot (s. Ref. 144)

Es wird davon ausgegangen, daß zwischen den Probanden, bedingt durch alternatives Spleißen oder bereits genetisch bedingt, sich die YY1-Proteine in ihrer Größe (Molekulargewicht) unterscheiden.

Daher kann mit Hilfe einer SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-Page) YY1-Proteine nach ihrer Größe aufgetrennt werden. Durch das SDS erhalten die Proteine negative Ladungen (SDS-Bindung). Nach dem gelelektrophoretischen Lauf wird das Trenngel auf eine immobilisierte Membran (Nitrozellulose) transferiert. Mittels spezifischer Antikörper gegen YY1 gerichtet und Alkalischer Phosphatase werden die Proteine angefärbt.

Gegenstand der Erfindung ist somit ein Verfahren zur Bestimmung der Neigung, an Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen (insbesondere, Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie), Typ-2-Diabetes, Krebs (insbesondere Lungenkrebs, Brustkrebs, Darmkrebs, u.a.) oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen zu erkranken, bei dem man genomische DNA aus isolierten mononukleären Blutzellen amplifiziert, sequenziert und man Änderungen oder Abweichungen

der Nukleinsäuresequenz, die für ein Protein mit der in SEQ ID NO:6 dargestellten Aminosäuresequenz kodiert, bestimmt, wobei Abweichungen von Codons (nicht-stille Mutationen) eine erhöhte Neigung anzeigen, an einer der vorgenannten Krankheiten zu erkranken.

Weitere Mutationen, die auf höhere Diabetesneigung hindeuten können, liegen in folgenden Sequenzbereichen und lassen sich unter Verwendung folgender Primer nachweisen: Intron 4: Primer: K815-F/K817-R; K815-F/K875; K821-F/K817-R; K821-F/K870-R; K874-F/K870-R. Zur Amplifikation verwendet man vorzugsweise die Primer K823-F/K825-R; K884-F/K806-R; K801-F/K804-R; K814-F/KK832-R; K828-F/K833-R; K831-F/K817-R; K815-F/K870-R; K815-F/K818-R; K816-F/K819-R; K834-F/K836-R, F15/R12; F15/R14; F15/R13; F57/R16; F57/R20; F57/R21; F59/RR25; F59/RR30; F59/R33; F95/R34; F96/R39; F95/R48; F95/R50; F60/R7; F60/R8; F60/R66; F60/R67; F96/R76; F96/R77; F96/R81 F96/R83; F33/R1; F33/R4; F33/R15; F39/R28; F40/R3; F41/R5; oder andere Kombinationen.

Ferner eingeschlossen ist ein Verfahren zur Bestimmung der Neigung, an Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen (insbesondere Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie), Typ-2-Diabetes oder Krebs (insbesondere Lungenkrebs, Brustkrebs, Darmkrebs, u.a.) oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen zu erkranken, bei dem man RNA aus isolierten mononukleären Blutzellen oder Gewebsbiopsien (Fettgewebe, Muskelgewebe, Haut) - bzw. Gewebspunktionen (Leber, Niere) isoliert, amplifiziert und quantifiziert, wobei eine erhöhte/verminderte Expression eine erhöhte/verminderte Neigung anzeigt, an Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen (insbesondere Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie), Typ-2-Diabetes, Krebs

(insbesondere Lungenkrebs, Brustkrebs, Darmkrebs, u.a.) oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen zu erkranken. (vgl. oben zu 'Genexpression').

2. Behandlung

2.1 Nutzung von DNA oder Antisense

Zur Abregulation von YY1 soll DNA oder Antisense von der vorliegenden Sequenz mittels PCR erzeugt und appliziert werden. Sowohl DNA als auch Antisense-Oligonukleotide werden modifiziert, um ihre Stabilität gegenüber den meisten Exo- und Endonukleasen zu erhöhen (168). Die Applikation der stabilisierten DNA oder Antisense erfolgt subkutan (s.c.) oder intramuskulär (i.m.). Die Dosis richtet sich nach der individuellen Expression von YY1, die in bestimmten Abständen geprüft werden soll, um eine ausgewogene Balance von YY1 im Hinblick auf andere Gene zu erreichen.

Antisense Oligonukleotide

Da die Antisense Oligonukleotide eine hohe Spezifität besitzen, können sie spezifisch binden, die RNA blockieren und somit die Expression verhindern. Die Antisense Oligonukleotide sollen im Abstand von 2 bis 20 Basen über die Sequenz verteilt werden. Dabei wird vorzugsweise bei Position 73 begonnen.

Wichtige Fragmente, bei denen mehrere Antisense-Oligonukleotide hergestellt wurden (immer um eine Position verschoben), sind: 73 bis 564, 565 bis 717, 718 bis 834, 835 bis 1071, 955 bis 999, 955 bis 1041, 1000 bis 1041, 1042-1125, 1759 bis 1848, 1849 bis 1938, 967 bis 1125, 1071 bis 1938 so-

wie die Intronsequenz 1126-1758. Die PCR-Amplifikation erfolgt wie beschrieben (12).

Oligonukleotid-Modifikationen

Zur Verbesserung der Effizienz/Stabilität mit Hilfe von:

- 1.) Methylphosphonaten
- 2.) Phosphorothioaten
 - Nuclease-resistent, wasserlöslich, starke Hybridisierung mit m-RNA
 - steigert RNase H Aktivität, die verantwortlich ist für den Abbau von m-RNA im Doppelstrang
- 3.) Phosphodithionate
- 4.) Polyamid-Rückgrat (PNA-DNA-Chimäre) statt Pentose-Phosphat (Uhlmann E., Peyman A., Breipohl G., Angew. Chem. 1998, 110, 2954-2983.)
 - Chimäre besser für die Zellaufnahme

Verbesserung der Transporteigenschaften mit Hilfe von:

- 1.) Alkylierung (Hydrophobie erhöht)
- 2.) Kopplung an Zucker

Ribozyme

Ribozyme sind katalytische RNA ,mit enzymatischen Eigenschaften (Phosphatester-Hydrolyse; Nobelpreis Chech/Altman). Ribozyme erkennen bestimmte Basensequenzen in der mRNA und zerschneiden das Molekül an diesen Stellen. Sie haben demnach eine Doppelfunktion, das Erkennen einer bestimmten Struktur, dann hydrolytische Spaltung einer Phosphordiesterbindung an einer bestimmten Stelle. Zwei Klassen von Ribozymen haben be-

sondere Bedeutung. Solche mit einer hammerförmigen ("hammer-head")-Struktur und andere, die eine Haarnadel ("hairpin")-Struktur aufweisen. Die von den Ribozymen entwickelte Endonukleaseaktivität kann praktisch gegen alle RNA-Strukturen wirksam werden.

Triple-Helix-Bindung

Darüber hinaus soll ein dritter Nukleotidstrang an eine DNA-Doppelhelix über zusätzliche (Hoogsteen-) Basenpaarung gekoppelt werden. Damit entsteht ein Stück eines Dreifachstranges, das nicht mehr transkribiert werden kann. Die Positionen in der DNA sind abhängig von der Sequenzstruktur des Probanden.

Nachteil: Erkennung nur in Purin-reichen Regionen

Gegenstand der Erfindung ist daher auch die Verwendung einer vorgenannten Nukleinsäure oder eines Antisense-Oligonukleotids zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung. Die pharmazeutische Zusammensetzung dient insbesondere zur Behandlung von Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen (insbesondere Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie), Typ-2-Diabetes oder Krebs (insbesondere Lungenkrebs, Brustkrebs, Darmkrebs, u.a.) oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen.

Ferner betrifft die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine vorgenannte Nukleinsäure oder ein Antisense-Oligonukleotid sowie gegebenenfalls zusätzliche, pharmazeutisch verträgliche Hilfs- und/oder Trägerstoffe enthält. Die Zusammensetzungen sind vorzugsweise in einer zur intravenösen (i.v.), subcutanen (s.c.) oder intramuskulären (i.m.) Applikation geeigneten Form formuliert.

2.2 Nutzung des Proteins

Das Protein YY1 oder Peptide desselben werden synthetisiert, um appliziert werden zu können. Bevorzugte AS-Fragmente sind: 1 bis 165, 166 bis 215, 216 bis 254, 255 bis 323, 255 bis 302, 255 bis 309 (mit und ohne Mutation), 310 bis 323 (mit und ohne Mutation), 324 bis 351, 352 bis 381, 382 bis 411. Darüber hinaus wird der verkürzte BB.6S- Bereich von 299 bis 351 bevorzugt. In diesem Zusammenhang kann die für ein Protein mit der in SEQ ID NO:6 kodierende Nukleinsäuresequenz, insbesondere die Sequenz gemäß SEQ ID NO:5, oder Fragmente derselben in einen Expressionsvektor eingebracht und unter Bedingungen expriert werden, die für das gewählte Vektorsystem geeignet oder vorteilhaft sind. Entsprechende Verfahren sind dem Fachmann wohlbekannt.

Dabei stehen Modifikationen des Proteines oder der Peptide durch:

- a) Acetylierungen
- b) Deacetylierungen
- c) Methylierungen
- d) Phosphorylierungen
- e) O- und N- Glykosylierungen

im Vordergrund, um Stabilität und Aktivität zu erhöhen bzw. zu verändern.

Die Erfindung betrifft somit auch die Verwendung eines oder mehrerer der oben genannten Proteine und/oder Peptide zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung. Die pharmazeutische Zusammensetzung dient insbesondere zur Behandlung von Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen (ins-

besondere Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmune Encephalomyelitis, Zöliakie), Typ-2-Diabetes oder Krebs (insbesondere Lungenkrebs, Brustkrebs, Darmkrebs, u.a.) oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen.

Eingeschlossen sind ferner pharmazeutische Zusammensetzungen, die ein oder mehrere der oben genannten Proteine und/oder Peptide enthalten, wobei die Proteine und Peptide gegebenenfalls wie oben beschrieben modifiziert sind. Die Zusammensetzungen enthalten gegebenenfalls zusätzliche, pharmazeutisch verträgliche Hilfs- und/oder Trägerstoffe und sind vorzugsweise in einer zur intravenösen (i.v.), subcutanen (s.c.) oder intramuskulären (i.m.) Applikation geeigneten Form formuliert.

Spleißvarianten

Darüber hinaus können alle möglichen Spleißvarianten (s. unten) mit Hilfe der im Rahmen der Erfindung untersuchten Sequenz erfaßt werden, um verschiedenste Proteine erzeugen zu können. Die Spleißvarianten unterschiedlicher Größe sind nachfolgend aufgezeigt. Diese Proteine werden vorzugsweise wiederum modifiziert (s. oben), um einen spezifischen Einsatz zu ermöglichen. Sie können entweder einzeln auch in Kombination eingesetzt werden.

Potentielle Spleißvarianten (<http://www.itba.mi.cnr.it>)

DONOR SITES:

<u>POSITION</u>	<u>EXON INTRON</u>	<u>SCORE</u>
157	GAG GTGGAG	78.
379	GAG GTGATT	85.
406	GAG GTAGTG	81.
409	GTA GTGGGT	81.
475	CCG GTACCC	75.
668	CGG GTAATA	80.
694	CAG GTGCAG	78.

1129	CAG GTAGAG	79.
1172	CTG GTCAGG	83.
1214	GGG GTATTT	73.
1273	CAG GTGTTA	77.
1363	GTA GTGAGT	80.
1370	GTA GTGTGT	72.
1423	CAG GTGACA	84.
1453	CTC GTGAGT	79.
1605	CCA GTGTGT	78.
1671	ATA GTAGGT	80.
1675	TAG GTGGTT	77.
1693	GCA GTGAGC	79.
2172	AAG GTGTTT	78.

ACCEPTOR SITES:

POSITION	INTRON	EXON	SCORE
31	CTCCCGCAG	CCCA	87.
36	GCAGCCCGCAG	GAGC	85.
335	GCGCTGCAG	CCGC	78.
747	GGTCTTCAG	ATGA	80.
882	ACCTCTCAG	ACCC	80.
1036	CGGTCCCAG	AGTC	78.
1053	TCTGTGCAG	AATG	77.
1274	GGACTGCAG	GTGT	80.
1333	TTCTAGCAG	GTTT	79.
1365	GTTTTGTAG	TGAG	80.
1418	TGGCTACAG	CTCC	77.
1424	CAGCTCCAG	GTGA	81.
1447	TGCTTATAG	AAGA	80.
1510	ACTTCCTAG	AGTG	81.
1572	TTTCTCAAG	AACT	84.
1713	GATCCCCAG	GTTC	80.
1734	TTTGCCAAG	AGGG	78.
1763	CCTTGACAG	TGCA	85.
1989	CCTCTTCAG	GAGT	79.
2037	TATTTCTAG	GAAG	83.

Die Spleißvarianten werden durch entsprechende Restriktionsenzyme erhalten. Die Verwendung der Spleißvarianten hängt von der individuellen Situation der Probanden ab.

Antikörper

Darüber hinaus werden monoklonale Antikörper für Bereiche des YY1-Proteins erzeugt und zur Abregulation verwendet. Auch

hierbei sind die Antikörper der individuelle Situation anzupassen.

2.3 Erhöhung der YY1-Expression

Die gesamte DNA-Sequenz oder Teilsequenzen von YY1 (Positionen 73 bis 564, 565 bis 717, 718 bis 834, 835 bis 1071; 955 bis 999, 955 bis 1041, 1000 bis 1041, 1042-1125, 1759 bis 1848, 1849 bis 1938, 967 bis 1125, 1071 bis 1938 sowie die Intronsequenz 1126-1758), die sich nach der individuellen Situation der Probanden richtet, werden in Plasmiden unter Kontrolle eukaryotischer, gewebsspezifischer Promotoren kloniert und zur Langzeitexpression von YY1 an sich oder seiner Teilsequenzen appliziert, um eine gewebsspezifische Erhöhung der Expression von YY1 oder seiner Teilsequenzen zu erreichen. Die Vektorsysteme werden entsprechend dem Stand der Technik eingesetzt (169).

2.4. Regulation anderer Gene durch YY1-Antisense

Angesichts der Multifunktionalität von YY1 wurde Antisense-DNA von YY1 mit den in der Genbank vorhandenen Sequenzen auf Übereinstimmung mit anderen Genen geprüft (siehe Figur 13; die angegebenen Positionen (Numerierungen) beziehen sich auf den kodierenden Bereich und nicht auf die Nukleotidnumerierung des Sequenzprotokolls). Diese entsprechenden Sequenzen sollen unter Nutzung von Kern-Lokalisationssignalen (NLS) mit Domänen von YY1 gezielt zur Beeinflussung dieser Gene (funktionelle Domäne) eingesetzt werden (vgl. Fig. 8).

Die Aktivierungsdomänen, Repressionsdomänen und Zinkfinger von YY1 sollen allein und in allen Kombinationsmöglichkeiten miteinander, mit der Antisense-DNA kreiert werden. Die Kombinati-

on ist abhängig vom Krankheitsbild, den betroffenen Organen und vom Geschlecht.

Kongene und transgene Tiere

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurden ferner kongene nicht-menschliche Säuger, vorzugsweise Ratten, erzeugt, die eine für (das mutierte) YY1 gemäß SEQ ID NO:4 kodierende Nukleinsäuresequenz enthalten. Bei dem Säuger handelt es sich vorzugsweise um eine Ratte. Die Säuger sind durch eine erniedrigte Typ-1-Diabetesinzidenz charakterisiert. In gleicher Weise ist es möglich, transgene Säuger, vorzugsweise Ratten, zu erzeugen, die sich dadurch auszeichnen, dass sie ebenfalls eine für (das mutierte) YY1 kodierende Nukleinsäuresequenz (s.o.) enthalten.

Die Erfindung stellt ferner erstmals ein Verfahren zum Identifizieren diabetesprotektiver Wirkstoffe bereit, bei dem den vorgenannten Säugern potentielle Wirksubstanzen verabreicht werden und man überprüft, in wieweit die Neigung, Typ-1-Diabetes zu entwickeln, reduziert wird. Gegenstand der Erfindung ist somit auch die Verwendung eines transgenen oder kongenen nicht-menschlicher Säugers, dessen Keim- und somatische Zellen eine Nukleinsäure oder einen Nukleinsäureabschnitt enthalten, die/der für ein Protein mit der in SEQ ID NO:4 (SHR) gezeigten Aminosäuresequenz oder einer dazu homologen Aminosäuresequenz (s.o.) kodiert, wobei die homologe Aminosäuresequenz an Position 303 Methionin und an Position 311 Arginin aufweist, zum Identifizieren Diabetes-protektiver Substanzen.

Die Erfindung betrifft ferner transgene nicht-menschliche Säuger, insbesondere Ratten, deren Keim- und somatische Zellen eine Nukleinsäure oder einen Nukleinsäureabschnitt enthalten, die/der für ein Protein mit der in SEQ ID NO:2 gezeigten Aminosäuresequenz oder einer dazu homologen Aminosäuresequenz (s.o.) kodiert, wobei die homologe Aminosäuresequenz an Position 303 Arginin und an Position 311 Lysin aufweist.

Weitere Erfindungsgegenstände

Die Erfindung betrifft ferner weitere Gegenstände und Ausführungsformen, die sich für den Fachmann vor dem Hintergrund der vorliegenden Offenbarung mühelos erschließen.

In diesem Zusammenhang sind auch Vorrichtungen (Kits) zur Durchführung eines der vorgenannten (Screening-)Verfahren zu nennen.

Methoden

1. Tierhaltung
2. Erzeugung der kongenen BB.6S
 - 2.1. Erzeugung weiterer kongener Linien
3. Phänotypische Charakterisierung
 - 3.1. Diabetesinzidenz und Blutglukosebestimmung
 - 3.2. Lymphozyten-Phänotypen
 - 3.3 Blutdruck
4. Statistische Analyse
5. Molekularbiologische Methoden
 - 5.1. Isolierung Langerhansscher Inseln des Pankreas
 - 5.2. DNA-Isolierung
 - 5.3. RNA-Isolierung aus Geweben
 - 5.4. RT-PCR
 - 5.5. Sequenzierung von YY1
 - 5.6. Eluierung der zweiten Bande bei BB.6S
 - 5.7. Genexpressionsstudien
 - 5.8. RNA-Isolierung aus EDTA-Blut
6. Feinkartierung von YY1 (Sicherstellung, dass YY1 in dem diabetesprotektiven Bereich liegt)
7. Prüfung des Polymorphismus im Intron 3 unter Nutzung weiterer Ratten-Stämme
8. Weitere Untersuchungen in vitro
9. Weitere Untersuchungen in vivo
10. Primerbedingungen bei der Sequenzierung
11. Mikrosatellitenmarker

1. Tierhaltung

Die Tiere wurden unter Semibarrierebedingungen gehalten und hatten freien Zugang zu Pelletfutter (Ssniff R-Zucht, Spezialitäten GmbH, Soest) sowie Wasser (pH 2,5 - 3).

Die Tiere wurden unter einem 12 Stunden Rhythmus gehalten (12h Licht, 12h Dunkelheit). In einem Käfig befanden sich maximal 3 Tiere.

Alle tierexperimentellen Arbeiten erfolgten unter Einhaltung der gültigen Tierschutzbestimmungen.

2. Erzeugung der kongenen BB.6S

Käuflich erworbene, männliche SHR/Mol-Ratten (Møllegaard Breeding Ltd, Dänemark) wurden mit diabetischen BB/OK-Weibchen gekreuzt. Die resultierenden F1-Hybriden wurden auf diabetische BB/OK-Ratten insgesamt 7 mal rückgekreuzt. Die Nachkommen jeder Rückkreuzungsgeneration wurden auf Heterozygotie in dem interessierenden chromosomalen mittels PCR-analyzierter Mikrosatellitenmarker, die die interessierenden Bereiche flankieren, genetisch analysiert. Die für diesen Bereich heterozygoten Tiere wurden dann für die Erzeugung der nächsten Rückkreuzungsgeneration angepaart. Für den chromosomalen Bereich heterozygoten Tiere der 7 Rückkreuzungsgeneration wurden dann untereinander (intercross) gekreuzt und erneut genetisch analysiert. Zunächst wurden alle Tiere, die für den interessierenden chromosomalen Bereich homozygot für Allele der SHR-Ratten waren, selektiert. Diese Tiere wurden dann erneut mittels 139 PCR-analyzierter Mikrosatellitenmarker, die etwa 96% des Genoms der Ratte abdecken, genetisch charakterisiert. Tiere, die dann für diese 139 Marker homozygot für Allele der

BB/OK-Ratte waren, wurden für die Etablierung (Founder) der kongenen Linien BB.SHR eingesetzt und phänotypisch charakterisiert.

Das Markerspektrum wurde erweitert, um einerseits den genetischen BB/OK-Background abzusichern (s. Material&Methoden-Teil) und um andererseits möglichst Rekombinationen in kleinen Bereiche erkennen zu können: D6Rat3-D6Rat1-D6wox13-D6Rat101-Ighe/Ckb-D6Mgh2-D6Rat94-D6Rat183-D6Rat10-D6Rat7-D6Rat75-D6Rat9-D6Rat6-D6Rat160-D6Mgh9-D6Rat184.

Diese Linien wurden für die Weiterzucht zwecks Minimierung der Diabetes-protektiven Region eingesetzt. Durch die Etablierung verschiedener subkongener Linien (BB.6Sa-f) mit dem Phänotyp der BB.6S-Ratte, wurde der in Frage kommende chromosomale Bereich auf < 2 cM (30-40 Gene) eingegrenzt.

Kartierung des diabetesprotektiven Gens um den Locus D6Mgh2.

Tabelle 2:

cM		BB.6S	BB.6a	BB.6b	BB.6c	BB.6d	BB.6e	BB.6f
	D6Mgh4	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
2.1	D6Rat13	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
4.4	D6Wox5	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
1.5	D6Rat66	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
2.0	D6Rat184/ D6Mgh9	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
0.8	D6Rat160	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
1.3	D6Rat6	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
	D6Rat9	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
0.4	D6Rat75	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	

0.4	D6Rat7	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
2.1	D6Rat10	SHR	BB	BB	BB	BB	BB	SHR
1.6	D6Rat183	SHR	BB	SHR	BB	BB	BB	SHR
0.4	D6Rat94	SHR	BB	SHR	BB	BB	BB	SHR
1.9	D6Mgh2	SHR	SHR	SHR	BB	BB	BB	SHR
	Ighe	SHR	SHR	BB	SHR	SHR	SHR	SHR
1.7	Ckb/ D6Rat101	SHR	SHR	BB	SHR	SHR	BB	SHR
1.0	D6Rat1	SHR	SHR	BB	BB	BB	SHR	BB
1.9	D6Rat3	SHR	SHR	BB	BB	SHR	SHR	BB
	Diabete- sinzidenz	15%	10%	22%	>50%	>50%	>50%	14%

2.1. Erzeugung weiterer kongener Linien

BB.K(arlsburg)W(ild)R(atte)-Ratten

Neben diabetesresistenten SHR-Ratten wurden auch Wildfangratten zur Erzeugung von kongenen BB.K(arlsburg)W(ild)R(atte)-Ratten verwendet. Analog der BB.6S-Linie wurde der gleiche chromosomale Bereich der BB/OK von 15 cM durch den von Wildfangtieren ausgetauscht (BB.6W).

siehe Herstellung kongener Ratten-Linien unter Punkt 2.

3. Phänotypische Charakterisierung

Die Körpermasse wurde von nichtdiabetischen Ratten in der zwölften Woche bestimmt. (Waage NAGEMA, VEB Wägetechnik Rapido, Wägebereich 1-1000g, e=0,1g).

Zusätzlich wurden zu diesem Zeitpunkt die Blutglucose, das Serum Insulin, Plasma-Cholesterol und die Triglyzeride bestimmt. Blutproben wurde durch Punktion des Augenplexus nach An-

ästhesie mit Isoflurane (Abbott, Wiesbaden, Deutschland) durchgeführt.

Die Blutfette wurden über eine automatische Analyse (Roche Cobas Mira Plus, Roche, Schweiz) durchgeführt.

Das ELISA-Verfahren (Rat Insulin ELISA, Mercodida AB, Uppsala, Schweden) diente zur Bestimmung der Serum-Insulin-Konzentration.

3.1. Diabetesinzidenz und Blutglukosebestimmung

Die Diabetesinzidenz der Stämme wurde longitudinal in einer Inzuchtgeneration ermittelt. Dazu wurde vom 50. - 200. Lebensstag zweimal wöchentlich mittels Teststreifen (Diaabur-Test 5000, Boehringer, Mannheim, Deutschland) auf Glukosurie getestet und im positiven Fall der Blutzucker bestimmt (Analyzer ESAT 6660-2, Prüfgerätewerk Medingen GmbH). Wenn innerhalb von 2 Tagen zweimal eine Hyperglykämie (Blutglukose >15 mmol/l entspricht > 300 mg/dl) nachgewiesen wurde, galten die Ratten als diabetisch.

3.2. Lymphozyten-Phänotyp

Die Lymphozytenisolation von nichtdiabetischen Ratten erfolgte über Dichtgradientenzentrifugation unter Nutzung von Histopaque-1083 (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland).

Die Messung erfolgte über eine Zwei-Farben Immunfluoreszenz-Technik. (EPICS Profile II Flow Cytometer (Coulter, Hialeah, USA)).

Für die Phänotypisierung wurde eine Mindestanzahl von 0,5 x 10⁶ Zellen festgelegt. Folgende monoklonale Antikörper wurden benutzt:

Zellen	mAK	Firma
T-Zellen	R73-FITC	Medizinische Hochschule, Hannover, Deutschland
T-Zellen	3G2-FITC	Medizinische Hochschule, Hannover, Deutschland
B-Zellen	OX33-FITC	Pharmigen, Heidelberg, Deutschland
NK-Zellen	10/78-FITC	Pharmigen, Heidelberg, Deutschland
TH-Zellen	W3/25-FITC	Serotec, Eching, Deutschland
Ts/c-Zellen	341-FITC	Pharmigen, Heidelberg, Deutschland
akt.T-Zellen	OX39-PE	Pharmigen, Heidelberg, Deutschland
TH1/TH2-like Zellen	OX-22-PE	Pharmigen, Heidelberg, Deutschland
	W3/25-FITC	Serotec, Eching, Deutschland

3.3. Blutdruck

Der systolische Blutdruck wurde im Alter von 12 bis 14 Wochen zwischen 9.00 bis 11.00 Uhr über die Schwanz-Methode gemessen (Kent Scientific Corporation, Kent, England). Drei separate Punkte wurden benutzt, um einen Endwert zu erhalten.

4. Statistische Analyse

Die Berechnung der Mittelwerte und der Standardfehler (SD) erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS. Die Signifikanzen wurden mittels ANOVA Analyse berechnet.

5. Molekularbiologische Methoden

5.1. Isolierung Langerhansscher Inseln des Pankreas

Die Isolierung der Langerhanschen Inseln erfolgte mittels Kollagenaseverdau (Biochrom) und Dextran-Dichtegradientenzentrifugation (Dextran, Fluka, Schweiz). Es wurden mindestens 3 und maximal 15 Pankreata pro Kollagenaseverdau eingesetzt.

Nach Entnahme der Pankreata wurden diese in die Kollagenaselösung (30 mg Kollagenase (Biochrom) gelöst in 40 ml Hank's Salzlösung (Sigma) bei 37°C für 10 min) überführt und mittels Handschütteln verdaut. Anschließend wurde mit Hanks' Salzlösung das Inselsediment dreimal gewaschen. Nach Abzentrifugation der Inseln (1900 U/min) wurde der Überstand dekantiert und mit Dextranlösung (11 g Dextran/39 ml Hank's Salzlösung) aufgewirbelt. Die Inselemulsion wurde anschließend mit 3 weiteren Dichtegradienten von jeweils 4 ml überschichtet. Nach 20-minütiger Zentrifugation (1900 U/min) erfolgte die Handlung der Inseln unter dem Mikroskop. Zur Genexpressionsanalyse wurden jeweils 500 Langerhanssche Inseln eingesetzt.

5.2. DNA-Isolierung

Die Isolierung der genomischen DNA aus Lebergewebe wurde nach Vorschrift des Herstellers (Wizard®, Genomic DNA Purification Kit, Promega) durchgeführt.

5.3. RNA-Isolierung aus Geweben

Die RNA-Isolierung erfolgte nach den Angaben des Herstellers (RnEasy Mini Kit, Qiagen).

5.4. RT-PCR

Die Umschreibung der RNA in ssDNA (cDNA) erfolgte mit dem Reversen Transcription System der Firma Promega.

Für die Umschreibung wurde die RNA-Konzentration (Photometer, Eppendorf) auf 1,5 µg eingestellt.

Die 1,5 µg RNA wurden mit 1 µl Random-Hexamerprimer (Promega) versetzt und anschließend auf 13,5 µl Endvolumen mit Rnase freiem Wasser (Promega) aufgefüllt. Anschließend wurde dieser RNA-Mix für 5 min bei 65°C erhitzt und danach auf Eis für eine Minute abgekühlt. Nach Zugabe des RT (Reverse Transkriptase)-Mixes (6,5 µl) erfolgte die Umschreibung im Cyclor (Thermocycler, Techne, Cambridge) nach folgendem Programm:

50 min 42°C

10 min 70°C

RT-Mix enthält:

Volumen	Komponenten	Firma
+ 4 µl	5x MMLV-Puffer	Promega
+ 1 µl	10mM dNTP's	Promega
+ 0,5 µl	rRNasin	Promega
+ 1 µl	MMLV-Reverse Transkriptase	Promega
6,5 µl	Endvolumen	

Nach Beendigung des Cyclor-Programmes wurde die ssDNA mit 50 µl bidest-Wasser versetzt.

Die ssDNA wurde für die Expressionsstudien sowie für die Sequenzierung genutzt.

5.5. Sequenzierung von YY1

Zur Sequenzierung des Gens wurde genomische DNA aus Lebergewebe (Wizard[®], Genomic DNA Purification Kit, Promega) und RNA aus isolierten Langerhansschen Inseln, Pankreas, Leber und Gehirn der BB/OK-, SHR- und BB.6S-Ratte gewonnen (Rneasy Mini Kit, Qiagen). RNA wurde dann in ssDNA bzw. cDNA (siehe Pkt. 5.4) nach Angaben des Herstellers umgeschrieben (Reverse Transcription System, Promega). Sowohl genomische als auch cDNA wurde mittels PCR (Einsatz von GeneAmp[®] High Fidelity PCR System, Applied Biosystems) unter Verwendung verschiedener Primer so amplifiziert, daß überlappende Genprodukte zur Sequenzierung zur Verfügung standen (vgl. Fig. 11; Promotor: K823-F/K825-R*; Promotor und Exon 1: K884-F/K806-R; Exon 1: K801-F/K804-R; K814-F/K832-R*; Exon 2 und 3: K828-F/K833-R; K831-F/K817-R; Exon 4: K815-F/K870-R; K815-F/K818-R; K816-F/K819-R; K834-F/K836-R). Die PCR wurde wie folgt durchgeführt: 3min 94 °C, gefolgt von 35 Zyklen a 30sec 94 °C, 1 min 55 oder 60 °C (*), 45 sec 72 °C mit anschließender Elongation von 3min bei 72 °C.

Die amplifizierten Genprodukte wurden nach Reinigung mit Amicon[®] Microcon-PCR-Zentrifalfiltern (Millipore, USA) für die Sequenzier-PCR verwandt. Die gereinigten PCR-Produkte (250 ng) wurden unter Verwendung von ABIPRISM[®] BigDye Terminators v3.0 Cycle Sequencing Kit nach Vorschrift des Herstellers (Applied Biosystems) amplifiziert (25 Zyklen: 10 sec. 96 °C, 4 min 60°C). Die amplifizierten Genprodukte wurden anschließend mit Alkohol gefällt, getrocknet, in Formamid (4 µl) und Loading Buffer (1µl) aufgenommen, 2 min bei 90 °C denaturiert und da-

nach mit dem ABI PRISM® 377 (Applied Biosystems) sequenziert. Die Sequenzauswertung, einschließlich der Erstellung der Proteinsequenz erfolgte mit der Sequenzanalysesoftware v3.4.1 (Applied Biosystems, USA). Die Genprodukte wurden wiederholt sequenziert und analysiert, um Artefakte ausschließen zu können.

Die Prüfung der Sequenz mit der Genbank erfolgte online (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST).

5.6. Eluierung der zweiten Bande bei BB.6S

Es wurde nach der gelelektrophoretischen Auftrennung die zweite Bande (Pankreas, Leber, Gehirn) herausgeschnitten und mit dem Wizard®PCR Preps DNA Purification System der Firma Promega eluiert. Nach Amplifizierung mit den Primern K831-F/K870-R erfolgte die Sequenzierung am ABI PRISM® 377 (Applied Biosystems (vgl. Fig. 12 und SEQ ID NO:7)).

5.7. Genexpressionsstudien

Aus gewonnener RNA von isolierten Langerhansschen Inseln, Pankreas, Leber, Gehirn, Thymus und Milz von 8 Tage alten Ratten der Inzuchtstämme BB/OK, SHR, BB.6S und LEW („unbelastete“ Kontrolle) erfolgte die Umschreibung in ssDNA (siehe Punkt 5.4). Die optimalen PCR-Bedingungen wurden für jedes Primerpaar unter Verwendung von ssDNA diabetes-resistenter LEW-Ratten erarbeitet. Als Kontrollsituation (housekeeping gene) wurde die Genexpression von GAPDH zugrunde gelegt. Gewebsspezifische cDNA wurde mit den Primern für GAPDH (F: 5'TCCCTCAAGATTGTCAGCAA3'; R: 5'AGATCCACAAACGGATACATT3', Produktgröße = 308bp) und den YY1-Primern K801-F/KK804-R (Exon 1) und K831-F/K8818-R bzw. K831-F/K870-R (Zinkfinger) amplifi-

ziert. Die Genprodukte wurden gelelektrophoretisch aufgetrennt und die Expressionsstärke zwischen den Stämmen unter Berücksichtigung von GAPDH und Nutzung des Typhoon 8600 Variable Mode Imager (Amersham-Pharmacia Biotech, U.K.) quantifiziert.

5.8 RNA-Isolierung aus EDTA-Blut

Produkt	Firma
QIAamp® RNA Blood Mini Kit	QIAGEN

zusätzliche Nutzung von:

Produkt	Firma
QIAshredder	QIAGEN
RQ1-RNase free DNase	Promega

- ausführliche Anleitung im mitgelieferten QIAGEN Mini Handbook

6. Feinkartierung von YY1 (Sicherstellung, dass YY1 in dem diabetesprotektiven Bereich liegt)

Die Feinkartierung erfolgte mit Hilfe der Maus-Gensequenz. Anhand dieser Gensequenz könnten Primer hergestellt werden.

7. Prüfung des Polymorphismus im Intron 3 unter Nutzung weiterer Ratten-Stämme

Dazu wurden folgende Stämme, die unter gleichen Bedingungen wie BB.6S gehalten werden, benutzt: 2 Wildfangtiere (Wildtyp, M+W), jeweils 1 Tier von diabetes-resistenten, ingezüchteten DA/K, BN/Mol, LEW/K und WOKW-Ratten.

8. Weitere Untersuchungen in vitro

Morphologische Untersuchungen des Pankreas von normoglykämischen BB/OK- und BB.6S-Ratten (Lucke, S., Klötting, I., Pusch, A., Heinrich, H.W. and H.J. Hahn. Endocrine pancreas histology of congenic BB-rat strains with reduced diabetes incidence after genetic manipulation on chromosomes 4, 6 and X. Autoimmunity 36, 2003, 143-149).

Untersuchungen an isolierten Langerhansschen Inseln von BB/OK- und BB.6S- Ratten durch Variation der Ca-Konzentration im Kulturmedium.

Calbindin-D28k Proteinexpression mittels Westernblotanalyse unter Basalbedingungen und mit zunehmender Ca-Konzentration im Medium.

9. Weitere Untersuchungen in vivo

Untersuchungen zur Frakturheilung bei BB/OK- und diabetes-resistenten LEW.1A-Ratten (38).

BB/OK und BB.6S-Ratten wurden mit Standarddiät (0,8% Ca), mit Ca-reicher (2%) und Ca-armer Diät (0,4%) ernährt (hergestellt von Ssniff R-Zucht, Spezialitäten GmbH, Soest) und bis zur 30. Lebenswoche auf Diabetesentwicklung beobachtet (nicht publiziert).

Verabreichung von Ca-Kanal-Blockern oder verschiedenen Ca-Antagonisten (Quercetin). (nicht publiziert)

10. Primerbedingungen bei der Sequenzierung

Für alle Primer gelten folgende Bedingungen:

Denaturierung: 3 min 94 °C
 Annealing: 35 Zyklen a 30sec 94°C
 1 min 55 oder 60 °C (*)
 45 sec 72 °C
 Elongation: 3 min bei 72 °C.

11. Mikrosatellitenmarker

<u>Chr.</u>	<u>Intern</u>	<u>Marker</u>	<u>Gesamt</u>
1	R152	Igf2	12
1	K6	D1Mgh10	
1	K7	D1Mgh12	
1	K57	D1Mgh7	
1	K58	D1Mit3	
1	K109	D1Mgh6	
1	K136	D1Mgh4	
1	K220	D1Mgh18	
1	K228	D1Mgh14	
1	K524	D1Rat249	
1	K526	D1Rat167	
1	K533	D1Rat60	
2	K110	D2Mit8	11
2	K111	D2Mgh9	
2	K138	D2Mit1	
2	K139	D2Mit4	
2	K140	D2Mit15	
2	K230	D2Mgh14	
2	K238	D2Mit7	
2 (5)	K280	D5Mgh7	
2	K374	D2Wox8	
2	K376	D2Wox34	
2	K384	D2Wox1	
3	R142	Svs2p	7
3	K63	D3Mit1	
3	K66	D3Mgh11	
3	K68	D3Mit10	
3	K386	D3Wox1	
3	K393	D3Wox16	
3	K395	D3Wox25	

4	R88	Il-6
4	K147	Eno
4	K215	Nos
4	K253	D4Mit9
4	K262	D4Mit16
4	K264	D4Mgh9
4	K267	D4Mgh11
4	K547	D4Rat9
8		
5	R44	A2ug
5	Cjun	Cjun
5	K72	D5Mgh15
5	K151	D5Mgh5
5	K270	D5Mgh1
5	K404	D5Wox26
5	K412	D5Wox17
7		
6	R99	Ckb
6	K73	D6Mgh4
6	K74	D6Mit5
6	K154	D6Mit1
6	K155	D6Mgh5
6	K156	D6Mit4
6	K158	D6Mit9
6	K159	D6Pas1
6	K284	D6Mgh2
6	K288	D6Mit8
6	K289	D6Mit2
6	K290	D6Mit3
6	K416	D6Wox2
6	K417	D6Wox17
6	K420	D6Wox10
6	K506	D6Kyo4
6	K549	D6Rat184
6	K554	D6Rat160
6	K556	D6Rat101
6	K557	D6Rat31
6	K625	D6Rat66
21		
7	K26	D7Mit9
7	K77	D7Mit7
7	K162	D7Mgh7
7	K163	D7Mgh9
7	K300	D7Mit16
7	K427	D7Wox28
7	K428	D7Wox15
7	K435	D7Wox2
8		
8	R102	Apoc3

8	K84	D8Mit4
8	K116	D8Mit2
8	K117	D8Mgh11
8	K166	D8Mgh4
8	K437	D8Wox23
8	K444	D8Wox12
8	K560	D8Rat51
8		
9	R27	Cryg
9	Inhb	Inhb
9	K87	D9Mit1
9	K88	D9Mgh2
9	K171	Aep2
9	K451	D9Wox20
9	K453	D9Mgh5
7		
10	R126	Aep
10	Il-4	Il-4
10	K30	D10Mgh2
10	K32	D10Mit10
10	K119	D10Mgh6
10	K644	D10Rat4
10	K646	D10Rat8
7		
11	R22	Smst
11	K39	D11Mgh5
11	K91	D11Mit2
11	K120	D11Mgh3
11	K459	D11Wox4
11	K516	D11Rat22
6		
12	K42	D12Mit5
12	K179	D12Mit2
12	K182	D12Mgh4
12	K183	D12Mit4
12	K468	D12Wox15
5		
13	Atpa	Atpa
13	K11	D13UW
13	K93	D13Mit1
13	K122	D13Mgh8
13	K189	D13Mgh7
5		
14	R40	Alb
14	R130	Gck
14	K99	D14Mgh2
14	K100	D14Mgh1
14	K128	Csna
14	K130	D14Mgh3

14	K337	D14Mgh4
14	K584	D14Rat65
14	K588	D14Rat37
9		
15	K45	D15Mgh3
15	K102	D15Mgh6
15	K123	D15Mgh5
15	K482	D15Wox5
15	K483	D15Wox3
5		
16	K48	D16Mgh4
16	K49	D16Mit2
16	K170	D9Mgh1
16	K486	D16Wox7
4		
17	K35	D17Mgh3
17	K36	D17Mgh5
17	K104	D17Mit7
17	K105	D17Mit5
17	K491	D17Wox8
5		
18	R66	Olf
18	R98	Gjai
18	Mit9	D18Mit9
18	K12	D18Mgh3
18	K202	D18Mit4
18	K511	D18Kyo1
18	K559	D18Rat44
7		
19	K206	D19Mit7
19	K569	D19Rat12
19	K572	D19Rat3
19	K575	D19Rat34
4		
20	R145	Tnf
20	K108	D20Mgh1
20	K127	Prkacn
3		
X	Mgh3	DXMgh3
X	K15	DXMgh1
X	R87	Pfkfb
X	R47	Ar
X	K657	DXRat17
X	K654	DXRat19
X	K661	DXRat103
X	K661	DXRat103
X	K364	DXWox29
X	K352	DXWox17
X	K359	DXWox24

82

	11
Gesamt	160

Referenzen

- 1 She, J-X. and M.P. Marron. Genetic susceptibility factors in typ1 diabetes: linkage, disequilibrium and functional analyses, *Cur. Opin. Immunol.*, 10, 1998, 682-689
- 2 Morahan, G., Huang, D., Ymer, S.I. et al. Linkage disequilibrium of a type 1 diabetes susceptibility locus with a regulatory IL12B allele. *Nature Genet.* 27, 2001, 218-221
- 3 Klöting, I. and L. Vogt. BB/O(ttawa)K (arlsburg) rats: Features of a subline of diabetes-prone BB rats. *Diabetes Res.*, 1991,18,79-87
- 4 Lühder, F., Woltanski, K.P., Hamann, J. et al. Detection of antibodies against both isoforms of glutamate decarboxylase in BB/OK rats by western blotting and immuno trapping enzyme activity assay. *Diabetes Res.* 20, 1992, 97-107
- 5 Ziegler, B., Witt, S., Kohnert, K.D. et al. Characterization of monoclonal islet cell reactive autoantibodies from the diabetic Biobreeding (BB/OK) rat. *Acta Diabetol.*30, 1993, 201-206
- 6 Schröder, D., Schmidt, S., Klöting, I. and B. Hehmke. Effect of syngeneic islet antigen administration on complement-dependent antibody-mediated cytotoxicity to islet cells and diabetes onset in diabetes-prone BB/OK rats. *Autoimmunity* 14,1993, 283-289
- 7 Vogt, L. and I. Klöting. Genetic analysis of frequencies of phenotypes in the spontaneously diabetic BB rat- a main animal model of autoimmune type-I-diabetes. *Diabetes Res.*, 22, 1993, 105-113
- 8 Klöting, I., Stark, O. and U. Fischer. Incidence of diabetes in F2 and first backcross hybrids of BB rats of different origin. In: *Lessons from animal diabetes II/Eds. Shafir, Renold, -London, Paris, J.Libbey, 1988, 85-87*
- 9 Klöting, I., and Vogt, L. (1990). Coat colour phenotype, leucopenia and insulin-dependent diabetes mellitus in BB rats. *Diabetes Res.* 15, 37-39
- 10 Klöting, I., Stielow, M. and L. Vogt. Development of new animal models in diabetes research: spontaneously hypertensive-diabetic rats. *Diabetes Res.* 29, 1995, 127-138
- 11 Klöting, I. and P. Kovacs. Crosses between diabetic BB/OK and wild rats confirm that a 3rd gene is essential for diabetes development. *Acta Diabetol.* 35, 1998, 109-111
- 12 Klöting, I., Voigt, B. and P. Kovács. Comparison of genetic variability at microsatellite loci in wild rats and inbred rat strains (*Rattus norvegicus*). *Mamm. Genome.* 8, 1997, 589-591
- 13 Klöting, I., Vogt, L. and T. Serikawa. Locus on chromosome 18 cosegregates with diabetes in the BB/OK rat subline. *Diabet. Metab.* 21, 1995, 338-344
- 14 Klöting, I., S. Schmidt and P. Kovacs. Mapping of novel diabetes predisposing and protecting genes in the spontane-

- ously diabetic BB/OK rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 245, 1998, 483-486
- 15 Klöting, I. and P. Kovacs. Phenotypic differences between diabetes-prone BB rat sublines cosegregate with loci on chromosomes X and 10. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 45, 1998, 865-870
 - 16 Klöting, I. and P. Kovacs. Genes of the immune system cosegregate with the age at onset of diabetes in the BB/OK rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 242, 1998, 461-463
 - 17 Klöting, I. and P. Kovacs. Loci of the immune system are implicated in diabetes frequency and age at onset of diabetes in BB rats. *J. Exp. Anim. Sci.* 41, 2000, 19-21
 - 18 Klöting, I., Vogt, L., Reetz, I.C. et al. New congenic rat strains for the separate study of MHC and non-MHC genetic effects in the development of diabetes in BB rats. *Diabetes Res.* 15, 1990, 41-45
 - 19 Voigt, B., Berg, S., Kovács, P. et al. Congenic spontaneously diabetic hypertensive BB.SHR rats. *Transplant. Proc.* 29, 1997, 1677-1678
 - 20 Klöting, I., Kovacs, P. and B. Kuttler. Phenotypic consequences after restoration of lymphopenia in the diabetes-prone BB/OK rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 239, 1997, 106-110
 - 21 Klöting, I. Voigt, B. and P. Kovacs. Metabolic features of newly established congenic diabetes-prone BB.SHR rat strains. *Life Sci.* 62, 1998, 973 - 979
 - 22 Kovacs, P. and I. Klöting. Congenic strain confirms putative quantitative trait locus for body weight in the rat. *Mamm. Genome* 9, 1998, 294-296
 - 23 van den Brandt, J., Kovacs, P. and I. Klöting. Congenic diabetes-prone BB.Sa and BB.Xs rats differ from their progenitor strain BB/OK in frequency and severity of insulin-dependent diabetes mellitus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 263, 1999, 843-847
 - 24 Klöting, I., van den Brandt, J. and B. Kuttler. Genes of SHR rats protect spontaneously diabetic BB/OK rats from diabetes: Lessons from congenic BB.SHR rat strains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 283, 2001, 399-405
 - 25 Podolin, P.L., Denny, P., Lord, C.J. et al. Congenic mapping of the insulin-dependent diabetes (idd) gene, *Idd10*, localises two genes mediating the *Idd10* Effect and eliminates the candidate *Fcgr1*. *J. Immunology* 159, 1997, 1835-1843
 - 26 Podolin, P.L., Denny, P., Armitage, N. et al. Localisation of two insulin-dependent diabetes genes to the *Idd10* region on mouse chromosome 3. *Mamm. Genome* 9, 1998, 283-286
 - 27 Lyons, P.A., Hancock, W.W., Denny, P. et al. The NOD *Idd9* genetic interval influences the pathogenicity of insulinitis and contains molecular variants of *Cd30*, *Tnfr2*, and *Cd137*. *Immunity* 13, 2000, 107-115

- 28 McDuffie, M. Derivation of diabetes-resistant congenic lines from the nonobese diabetic mouse. *Clinical Immunology* 96, 2000, 119-130
- 29 Norman, R. A., Dzielak, D. J., Bost, K. L. et al. Galloway. Immune dysfunction contributes to the aetiology of spontaneous hypertension. *J. Hypertens.* 3, 1985, 261-268
- 30 Fannon, L.D., Braylan, R. C. and M.I. Phillips. Alterations of lymphocyte populations during development in the spontaneously hypertensive rat. *J. Hypertens.* 10, 1992, 629-634
- 31 Ofosu-Appiah, W. and C. Ruggiero. Abnormal activation and loss of suppressor T cells in the spontaneously hypertensive rat. *Cell Immunol.* 145, 1992, 130-145
- 32 Klöting, I., van den Brandt, J. and B. Kuttler. Different and gradual protection from spontaneous diabetes by alleles of SHR and Wild rats in congenic BB.SHR and BB.KWR rat strains. 10th International Symposium on SHR and Molecular Medicine, 2.-4.5.2001, Berlin-Buch. *J. Mol. Med.* 79, 2001, B12, Abstr.
- 33 Watanabe, T.K., Bihoreau, M.T., McCarthy, L.C. et al. A radiation hybrid map of the rat genome containing 5,255 markers. *Nat. Genet.* 22, 1999, 27-36
- 34 Tomas, E., Lin, Y.S., Dagher, Z. et al. Hyperglycemia and insulin resistance: possible mechanisms. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 967, 2002, 43-51
- 35 Lawlor, M.A. and D.R. Alessi. PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin response. *J. Cell Sci.* 114, 2001, 2903-2910
- 36 Summers, S.A., Yin, V.P., Whiteman, E.L. et al. Signaling pathways mediating insulin-stimulated glucose transport. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 892, 1999, 169-186
- 37 Lucke, S., Klöting, I., Pusch, A., et.al. Endocrine pancreas histology of congenic BB-rat strains with reduced incidence after genetic manipulation on chromosomes 4,6 and X. *Autoimmunity* 36, 2003, 143-149)
- 38 Follak, N., Klöting, I. Gänzer, D. et al. Scanning electron microscopic examinations on retarded bone defect healing in spontaneously diabetic BB/O(ttawa)K(arlsburg) rats. *Histol. Histopathol.* 18, 2003, 111-120
- 39 Pondel, M. Calcitonin and calcitonin receptors: bone and beyond. *Int. J. Exp. Pathol.* 81, 2001, 405-422
- 40 Ahren, B. Autonomic regulation of islet hormone secretion- Implications for health and disease. *Diabetologia* 43, 2000, 393-410
- 41 Rabinovitch, A., Suarez-Pinzon, W.L., Sooy, K. et al. Expression of calbindin-D(28k) in a pancreatic islet beta-cell line protects against cytokine-induced apoptosis and necrosis. *Endocrinology* 142, 2001, 3649-3655
- 42 Sooy, K., Schermerhorn, T., Noda, M. et al. Calbindin-D(28k) controls (Ca(2+)) and insulin release. Evidence

- obtained from calbindin-d(28k) knockout mice and beta cell lines. *J. Biol. Chem.* 274, 1999, 34343-34349
- 43 Lee, J.S., See, R.H., Galvin, K.M. et al. Functional interactions between YY1 and adenovirus E1A. *Nucleic Acids Res.* 23, 1995, 925-931
- 44 Bushmeyer, S.M. and M.L. Atchison. Identification of YY1 sequences necessary for association with the nuclear matrix and for transcriptional repression functions. *J. Cell Biochem.* 68, 1998, 484-499
- 45 Galvin, K.M. and Y. Shi. Multiple mechanisms of transcriptional repression by YY1. *Mol. Cell Biol.* 17, 1997, 3723-3732
- 46 Houbaviy, H.B., Usheva, A., Shenk, T. et al. Cocystal structure of YY1 bound to the adeno-associated virus P5 initiator. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93, 1996, 13577-13582
- 47 Lewis, B.A., Tullis, G., Seto, E. et al. Adenovirus E1A proteins interact with the cellular YY1 transcription factor. *J. Virol.* 69, 1995, 1628-1636
- 48 Yang, W.M., Inouye, C., Zeng, Y. et al. Transcriptional repression by YY1 is mediated by interaction with a mammalian homolog of the yeast global regulator RPD3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 1996, 12845-12850
- 49 Thomas, J.M. and E. Seto. Unlocking the mechanisms of transcription factor YY1: are chromatin modifying enzymes the key. *Gene* 236, 1999, 197-208
- 50 Shrivastava, A., Saleque, S., Kalpana, S. et al. Inhibition of transcriptional regulator Yin-Yang-1 by association with c-Myc. *Science* 262, 1993, 1889-1892
- 51 Austen, M., Luscher, B. and J.M. Luscher-Firzlauff. Characterization of the transcriptional regulator YY1. The bipartite transactivation domain is dependent of interaction with the TATA box-binding protein, transcription factor IIB, TAFII55, or c-AMP-responsive element-binding protein (CBP)-binding protein. *J. Biol. Chem.* 272, 1997, 1709-1717
- 52 Seto, E., Lewis, B. and T. Shenk. Interaction between transcription factor SP1 and YY1. *Nature* 365, 1993, 462-464
- 53 Lee, J.S., Galvin, K.M. and Y. Shi. Evidence of physical interaction between the zinc-finger transcription factors YY1 and SP1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1993, 6145-6149
- 54 Lee, J.S., Zang, X. and Y. Shi. Differential interaction of the CREB/ATF family of transcription factors with p300 and adenovirus E1A. *J. Biol. Chem.* 271, 1996, 17666-17674
- 55 Lee, J.S., Galvin, K.M., See, R.H. et al. Relief of YY1 transcriptional repression by adenovirus E1A is mediated by E1A-associated protein p300. *Genes Devel.* 9, 1995, 1188-1198
- 56 Hyde-DeRuyscher, R.P., Jennings, E. and T. Shenk. DNA binding sites for the transcriptional activator/repressor YY1. *Nucl. Acid Res.* 23, 1995, 4457-4465

- 57 Tauton, J., Hassig, C.A. and S.L. Schreiber. A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. *Science* 272,1996, 408-411
- 58 Yang, W.M., Yao, Y.L., Sun, J.M. et al. Isolation and characterization of c-DNAs corresponding to an additional member of the human histone deacetylase gene family. *J. Biol. Chem.* 272, 1997, 28001-28007
- 59 Hassig, C.A. and S.L. Schreiber. Nuclear histone acetylases and deacetylases and transcriptional regulation: HATs off to HDACs. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 1, 1997, 300-308
- 60 Hassig, C.A., Tong J.K., Fleischer T.C. et al. A role of histone deacetylase activity in HDAC1-mediated transcriptional repression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 1998, 3519-3524
- 61 Shi, Y., Seto, E., Chang, L. et al. Transcriptional repression by YY1, a human GLI-Krüppel-related protein and relief of repression by adenovirus E1A protein. *Cell* 67, 1991, 377-388
- 62 Usheva, A. and T. Shenk. TATA-binding-protein-independent initiation: YY1, TFIIB and RNA polymerase II direct basal transcription on supercoiled template DNA. *Cell* 76,1994, 1115-1121
- 63 Chiang, C.M. and R.G. Roeder. Cloning of an intrinsic human TFIID subunit that interacts with multiple transcriptional activators. *Science* 267,1995, 531-536
- 64 Seto, E., Shi, Y. and T. Shenk. YY1 is an initiator sequence-binding protein that directs and activates transcription in vitro. *Nature* 354,1991, 241-245
- 65 Kwok, R.P., Lundblad, J.R., Chrivia, J.C. et al. Nuclear protein CBP is a coactivator for the transcription factor CREB. *Nature* 370,1994,223-226
- 66 Yao, Y.L., Yang, W.M. and E. Seto. Regulation of the transcription factor YY1 by acetylation and deacetylation. *Mol. Cell Biol.* 17, 2001, 5979-5991
- 67 van den Brandt, J., Kovacs, P. and I. Klöting. Features of the metabolic syndrome in the spontaneously hypertriglyceridemic Wistar-Kyoto (Wistar-Kyoto) rat. *Metabolism* 49, 2000, 1140-44
- 68 van den Brandt, J., Kovacs, P. and I. Klöting. Metabolic features in disease-resistant as well as in hypertensive SHR and newly established obese Wistar-Kyoto inbred rats. *Int. J. Obesity* 24, 2000, 1618-1622
- 69 Rosmalen, J.G., Leenen, P.J., Pelegri, C. et al. Islet abnormalities in the pathogenesis of autoimmune diabetes. *Trends. Endocrinol. Metab.* 13, 2002, 209-214
- 69b Nishiyama C., Yokota T., Nishiyama M. et al. Molecular cloning of the rat transcription factor YY1. *BioSci. Biotechnol. Biochem.* 67, 2003, 654-658
- 70 Kolb, H. Benign versus destructive insulinitis. *Diabetes Metab. Rev.* 13, 1997, 139-146

- 71 Foulis, A.K., Farquharson, M.A. and A. Meager. Immunoreactive alpha-interferon in insulin-secreting beta cells in type 1 diabetes mellitus. *Lancet* 2(8573), 1987, 1423-1427
- 72 Huang, X., Yuang, J., Goddard, A. et al. Interferon expression in the pancreas of patients with type 1 diabetes. *Diabetes* 44, 1995, 658-664
- 73 Foulis, A.K., McGill, M. and M.A. Farquharson. Insulinitis in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in man: macrophages, lymphocytes, and interferon- γ containing cells. *J. Pathol.* 165, 1991, 97-103
- 74 Yamagata, K., Nakajima, H., Tomita, K. et al. Dominant TCR α chain clonotypes and interferon- γ are expressed in the pancreas of patients with recent-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 34, 1996, 37-46
- 75 Huang, X., Hultgren, B., Dybdal, N. et al. Islet expression of interferon- α precedes diabetes in both the BB rat and streptozotocin-treated mice. *Immunity* 1, 1994, 469-478
- 76 Campbell, I.L., Hobbs, M.V., Dockter, J. et al. Islet inflammation and hyperplasia induced by the pancreatic islet-specific overexpression of interleukin-6 in transgenic mice. *Am. J. Pathol.* 145, 1994, 157-166
- 77 DiCosmo, B.F., Picarella, D. and R.A. Flavell. Local production of human IL-6 promotes insulinitis but retards the onset of insulin-dependent diabetes mellitus in non-obese diabetic mice. *Int. Immunol.* 6, 1994, 1829-1837
- 78 Wogensen, L., Lee, M. and N. Sarvetnick. Production of interleukin 10 by islet cells accelerates immune-mediated destruction of β cells in non-obese diabetic mice. *J. Exp. Med.* 179, 1994, 1379-1384
- 79 Moritani, M., Yoshimoto, K., Tashiro, F. et al. Transgenic expression of IL-10 in pancreatic islet A cells accelerates autoimmune diabetes in non-obese diabetic mice. *Int. Immunol.* 6, 1994, 1927-1936
- 80 Mueller, R., Krah, T. and N. Sarvetnick. Pancreatic expression of interleukin-4 abrogates insulinitis and autoimmune diabetes in non-obese diabetic (NOD) mice. *J. Exp. Med.* 184, 1996, 1093-1099
- 81 Rabinovitch, A. and W.L. Suarez-Pinzon. Cytokines and their roles in pancreatic islet β -cell destruction and insulin-dependent diabetes mellitus. *Biochem. Pharmacol.* 55, 1998, 1139-1149
- 82 Klöting, I., van den Brandt, J. and B. Kuttler. Genes of SHR rats protect spontaneously diabetic BB/OK rats from diabetes: Lessons from congenic BB.SHR rat strains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 283, 2001, 399-405
- 83 Guo, J., Casolaro, V., Seto, E., et al. Yin-Yang 1 acti-

- vates interleukin-4 gene expression in T cells. *J. Biol. Chem.* 276, 2001, 48871-48878
- 84 Ye, J., Cippitelli, M., Dorman, L. et al. The nuclear factor YY1 suppresses the human gamma interferon promoter through two mechanisms: inhibition of AP1 binding and activation of a silencer element. *Mol. Cell Biol.* 16, 1996, 4744-4753
- 85 Hänninen, A., Jalkanen, S., Salmi, M. et al. Macrophages, T-cell receptor usage, and endothelial cell activation in the pancreas at the onset of insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 90, 1992, 1901-1910
- 86 Kay, T.W.H., Campbell, I.L., Oxbrow, L. et al. Overexpression of class I major histocompatibility complex accompanies Insulinitis in the non-obese diabetic mouse and is prevented by anti-interferon- γ -antibody. *Diabetologia*, 34, 1991, 779-785
- 87 Garban, H.J. and B. Bonavida. Nitric oxide inhibits the transcription repressor Yin-Yang 1 binding activity at the silencer region of the Fas promoter: a pivotal role for nitric oxide in the up-regulation of Fas gene expression in human tumor cells. *J. Immunol.* 167, 2001, 75-81
- 88 Like, A.A., Butler, L., Williams, R.M. et al. Spontaneous autoimmune diabetes mellitus in the BB rat. *Diabetes* 31 (Suppl. 1), 1982, 7-13
- 89 Janeway, C.A. and P. Travers. *Immunologie. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford.* 1997; 2 Auflage: 208-236.
- 90 Reizis, B. and P. Leder. Expression of the mouse Pre-T cell receptor α Gene is controlled by an upstream region containing a transcriptional enhancer. *J. Exp. Med.* 189, 1999, 1669-1678
- 91 Iritani, B.M. and R.N. Eisenman. c-Myc enhances protein synthesis and cell size during B lymphocyte development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 1999, 13180-13185
- 102 Dang, C., Resar, L., Emison, E. et al. Function of the c-Myc oncogenic transcription factor. *Exp. Cell Res.*, 253, 1999, 63-77
- 103 Austen, M., Cerni, C., Luscher-Firzlaff, J.M. and B. Luscher. YY1 can inhibit c-Myc function through a mechanism requiring DNA binding of YY1 but neither its transactivation domain nor direct interaction with c-Myc. *Oncogene* 30, 1998, 511-520
- 104 Menssen, A. and H. Hermeking. Characterization of the c-Myc-regulated transcriptome by SAGE: Identification and analysis of c-Myc target genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 99, 2002, 6274-6279
- 105 Schwab, M., Varmus, H.E., Bishop, J.M. et al. Chromosome localisation in normal human cells and neuroblastomas of a gene related to c-Myc. *Nature* 308, 1984, 288-291

- 106 Nau, M.M., Brooks, B.J., Battey, J. et al. L-myc, a new myc-related gene amplified and expressed in human small cell lung cancer. *Nature* 318, 1985, 69-73
- 107 Sugiyama, A., Kume, A., Nemoto, K. et al. Isolation and characterization of s-myc, a member of the rat myc gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 86, 1989, 9144-9148
- 108 Asker, C., Steinitz, M., Andersson, K. et al. Nucleotide sequence of the rat B-myc gene. *Oncogene* 4, 1989, 1523-1527
- 109 Blackwell, T.K., Huang, J., Ma, A. et al. Binding of myc proteins to canonical and noncanonical DNA sequences. *Mol. Cell Biol.* 13, 1993, 5216-5224
- 110 Blackwood, E.M. and R.N. Eisenmann. Max: a helix-loop-helix zipper protein that forms a sequence-specific DNA-binding complex with Myc. *Science* 251, 1991, 1211-1217
- 111 Grandori, C., Cowley, S.M., James, L.P. et al. The Myc/Max/Mad network and the transcriptional control of cell behaviour. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 2000, 653-699
- 112 Klötting, I. and L. Vogt. Influence of age and metabolic state of mothers on the life expectancy of non-diabetic offspring in diabetes-prone BB/OK rats. *Proceedings of the Fifth FELASA Symposium*, Ed. Bunyan, J., 1994, 265-269
- 131 Stocco, D.M. Tracking the role of a StAR in the sky of the new millennium. *Mol. Endocrinol.* 15, 2001, 1245-1254
- 132 Nackley, A.C., Shea-Eaton, W., Lopez, D. et al. Repression of the steroidogenic acute regulatory gene by the multi-functional transcription factor Yin Yang 1. *Endocrinology* 143, 2002, 1085-1096
- 133 Christenson, L.K., Osborne, T.F., McAllister, J.M. et al. Conditional response of the human steroidogenic acute regulatory protein gene promoter to sterol regulatory element binding protein-1a. *Endocrinology* 142, 2001, 28-36
- 134 Ericsson, J., Usheva, A. and P.A. Edwards.. YY1 is a negative regulator of transcription of three sterol regulatory element-binding protein-responsive genes. *J. Biol. Chem.* 274, 1999, 14508-14513
- 135 Amemiya-Kudo, M., Shimano, H., Yoshikawa, T. et al. Promoter analysis of the mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene. *J. Biol. Chem.* 275, 2000, 31078-31085
- 136 Amemiya-Kudo, M., Shimano, H., Hasty, A.H. et al. Transcriptional activities of nuclear SREBP-1a, -1c. and -2 to different target promoters of lipogenic and cholesterologenic genes. *J. Lipid Res.* 43, 2002, 1220-1235
- 137 Shea-Eaton, W., Lopez, D. and M.P. McLean. Yin Yang 1 protein negatively regulates high-density lipoprotein receptor gene transcription by disrupting binding of sterol regulatory element binding protein to the sterol regula-

- tory element. *Endocrinology* 142, 2001, 49-58
- 138 Bennett, M.K. and T.F. Osborne . Nutrient regulation of gene expression by the sterol regulatory element binding proteins: increased recruitment of gene-specific coregulatory factors and selective hyperacetylation of histone H 3 in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 2000, 6340-6344
- 139 Hasty, A.H., Shimano, H., Yahagi, N. et al. Sterol regulatory element-binding protein-1 is regulated by glucose at the transcriptional level. *J. Biol. Chem.* 275, 2000, 31069-31077
- 140 Sun, L., Halaihel, N. et al. Role of sterol regulatory element-binding protein 1 in regulation lipid metabolism and glomerulosclerosis in diabetes mellitus. *J. Biol. Chem.* 277, 2002, 18019-18927
- 141 Sewter, C., Berger, D., et al. Human obesity and type 2 diabetes are associated with alterations in SREBP 1 isoform expression that are reproduced ex vivo by tumor necrosis factor. *Diabetes* 51, 2002, 1035-1041
- 142 Hua, X., Yokoyama, C., Wu, J. et al. SREBP-2, a second basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that stimulates transcription by binding to a sterol regulatory element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1993, 11603-11607
- 143 Lund, J. and H.F. DeLuca. Biologically active metabolite of vitamin D3 from bone, liver, and blood serum. *J Lipid Res* 7, 1966, 739-744
- 144 Löffler, G. and P.E. Petrides. *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1998; 6. Auflage: 657-659
- 145 Barker, A.R., McDonnell, D.P., Huges, M. et al. Cloning and expression of full length cDNA and coding human vitamin D receptor. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 85, 1988, 3294-3298
- 146 Brumbaugh, P.F. and Haussler M.R. Nuclear and cytoplasmic binding components for vitamin D metabolites. *Life Sci* 1975; 16: 353-362.
- 147 DeLuca H.F. and m.T. Cantorna. Vitamin D: its role and uses in immunology. *FASEB J* 2001; 15: 2579-2585.
- 148 Guo B., Aslam F., van Wijnen A.J. et al. YY1 regulates vitamin D receptor/retinoid X receptor mediated transactivation of the vitamin D responsive osteocalcin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 121-126.
- 149 Raval-Pandya M., Dhawan P., Barletta F. et al. YY1 represses Vitamin D receptor mediated 25-Hydroxyvitamin D3 24-Hydroxylase transcription: relief of repression by CREB-binding protein. *Mol Endocrinology* 2001; 15: 1035-1046.
- 150 Kasuga H., Hosogane N., Matsuoka K. et al. Characterization of transgenic rats constitutively expressing vitamin D-24-hydroxylase gene. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 297(5): 1332-1338.

- 151 Chang T.J., Lei H.H., Yeh J.I. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms influence susceptibility to type 1 diabetes mellitus in the Taiwanese population. *Clin Endocrinology* 2000; 52: 575-580.
- 152 Li Y.C., Kong J., Wei M. et al. 1,25 Dihydroxyvitamin D3 is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin-system. *J Clin Invest* 2002; 110: 229-238.
- 153 Bhalla S.S., Robitaille L. and M. Nemer. Cooperative action by GATA-4 and YY1 of the cardiac b-type natriuretic peptide promotor. 2001 *J Biol Chem* 276: 11439-11445.
- 154 Charron F. and M. Nemer. GATA transcription factors and cardiac development. *Semin Cell Dev Biol* 1999; 10(1): 85-91.
- 155 Vincent C.K., Gualberto A., Patel C.V. et al. Different regulatory sequences control creatine kinase-M gene expression in directly injected skeletal and cardiac muscle. *Mol Biol Cell* 1993; 13(2): 1264-1272.
- 156 Lee T.C., Zhang Y. and R.J. Schwartz. Bifunctional transcriptional properties of YY1 in regulating muscle actin and c-myc gene expression during myogenesis. *Oncogene* 1994; 9(4): 1047-1052.
- 157 Chen C.Y. and R.J. Schwartz. Competition between negative acting YY1 versus positive acting serum response factor and tinman homologue Nkx-2.5 regulates cardiac alpha-actin promotor activity. *Mol Endocrinol* 1997; 11(6): 812-822.
- 158 MacLellan W.R., Lee T.C., Schwartz R.J. et al. Transforming growth factor-beta response elements of the alpha-actin gene. Combinatorial action of serum response factor, YY1, and SV40 enhancer-binding protein, TEF-1. *J Biol Chem* 1994; 269(24): 16754-16760.
- 159 Patten M., Hartogenis W.F. and C.S. Long. Interleukin 1 β Is a negative transcriptional regulator of alpha1-adrenic induces gene expression in cultured cardiac myocytes. *J Biol Chem* 1996; 271(35): 21134-21141.
- 160 Tan, T.P., Nonaka, K., Nuckolls, G.H., Liu, Y.H., Maxson, R.E., Slavkin, H.C. and L. Shum. YY1 activates Msx2 gene independent of bone morphogenetic protein signalling. *Nucl. Acids Res.* 30, 2002, 1213-1223
- 161 Lumsden, A. and R. Krumlauf. Patterning the vertebrate neuraxis. *Science* 274, 1996, 1109-1115
- 162 Chariot, A., Gielen, J., Merville, M.P. and V. Bours. The homeodomain-containing proteins: an update on their interacting partners. *Biochem. Pharmacol.* 58, 1999, 1851-1857
- 163 Bendall, A.J. and C. Abate-Shen. Roles for Msx and Dlx homeoproteins in vertebrate development. *Gene* 247, 2000, 17-31.
- 164 Liu, Y.H., Ma, L., Kundu, R., Ignelzi, M., Sangiorgi, F., Wu, L., Luo, W.,

- Snead, M.L. and R. Maxson . Function of the Msx2 gene in the morphogenesis of the skull. Ann. N.Y. Acad. Sci.785, 1996, 48-58
- 165 Cohen, M. M., Jr. Craniofacial disorders caused by mutations in homeobox genes MSX1 and MSX2. J. Craniofac. Genet Dev. Biol.20, 2000, 19-25
- 166 Pan, Z., Lichtler, A.C. and W.B. Upholt. DNase I hypersensitive sites in the chromatin of the chicken Msx2 gene differ in anterior and posterior limb mesenchyme, calvarial osteoblasts and embryonic fibroblasts. Biochem. Mol. Biol. Int. 46, 1998, 549-557
- 167 Donohoe, M.E., Zhang, X., McGinnis, L., Biggers, J., Li,E. and Y. Shi.
Targeted disruption of mouse Yin Yang 1 transcription factor results in peri-implantation lethality. Mol. Cell. Biol. 19, 1999, 7237-7244
- 168 Jansen, B. and U.Zangemeister-Wittke.Antisense therapy for cancer-the time of truth. Lancet Oncol. 3, 2002, 672-683
- 169 Chen, Y. A novel single-stranded DNA expression vector. Expert Opin. Biol. Ther. 2, 2002, 735-740

Patentansprüche:

1. Protein, dadurch gekennzeichnet, daß es die in SEQ ID NO:4 dargestellte Aminosäuresequenz aufweist.
2. Protein, das ein Homologes des Proteins nach Anspruch 1 ist und eine zu der in SEQ ID NO:4 dargestellten Sequenz homologe Aminosäuresequenz aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass das Protein an Position 303 Arginin und an Position 311 Lysin aufweist.
3. Protein nach Anspruch 2, das einen Homologiegrad von mindestens 95% aufweist.
4. Protein nach Anspruch 3, das einen Homologiegrad von mindestens 97% aufweist.
5. Protein nach Anspruch 3 oder 4, das einen Homologiegrad von mindestens 99% aufweist.
6. Peptid, dadurch gekennzeichnet, dass es ein Fragment des Proteins nach den Ansprüchen 1 bis 5 ist und eine Aminosäuresequenz aufweist, die den die Aminosäurepositionen 303 und 311 in SEQ ID NO:4 umfassenden Sequenzbereich enthält.
7. Peptid nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Länge von 53 bis 315 Aminosäuren aufweist.
8. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein für ein Protein oder ein Peptid nach den Ansprüchen 1 bis 7 kodiert.

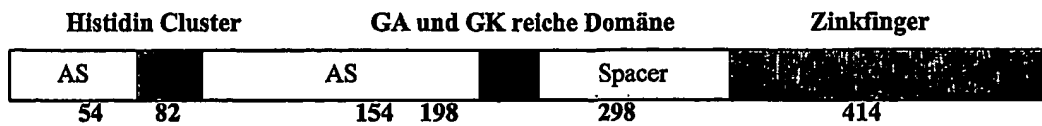
9. Nukleinsäure nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass sie die in SEQ ID NO:3 dargestellte Nukleinsäuresequenz aufweist.
10. Nukleinsäure nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die den die Nukleinsäurepositionen 979-981 und 1003-1005 in SEQ ID NO:3 umfassenden Sequenzbereich enthält.
11. Antikörper, der gegen ein Protein oder Peptid nach den Ansprüchen 1 bis 7 gerichtet ist.
12. Antikörper nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass er ein monoklonaler oder polyklonaler Antikörper ist.
13. Verfahren zur Bestimmung der Neigung, an Typ-1-Diabetes zu erkranken, dadurch gekennzeichnet, dass man genomische DNA aus isolierten mononukleäre Blutzellen amplifiziert, sequenziert und man Änderungen oder Abweichungen der Nukleinsäuresequenz, die für ein Protein mit der in SEQ ID NO:6 dargestellten Aminosäuresequenz kodiert, bestimmt, wobei Abweichungen von Codons (nicht-stille Mutationen) eine erhöhte Neigung anzeigen, an einer Autoimmunerkrankung, Typ-2-Diabetes, Krebs oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen zu erkranken.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Amplifikation die Primer K815-F/K817-R; K815-F/K875; K821-F/K817-R; K821-F/K870-R; K874-F/K870-R; K823-F/K825-R; K884-F/K806-R; K801-F/K804-R; K814-F/KK832-R; K828-F/K833-R; K831-F/K817-R; K815-F/K870-R; K815-F/K818-R; K816-F/K819-R; K834-F/K836-R, F15/R12; F15/R14;

F15/R13; F57/R16; F57/R20; F57/R21; F59/RR25; F59/RR30; F59/R33; F95/RR34; F96/R39; F95/R48; F95/R50; F60/R7; F60/R8; F60/R66; F60/R67; F96/R76; F96/R77; F96/R81 F96/R83; F33/R1; F33/R4; F33/R15; F39/R28; F40/R3; oder F41/R5 verwendet.

15. Verfahren zur Bestimmung der Neigung, an Typ-1-Diabetes zu erkranken, dadurch gekennzeichnet, dass man RNA aus isolierten mononukleäre Blutzellen oder Gewebsbiopsien isoliert, amplifiziert und quantifiziert, wobei eine erhöhte/verminderte Expression eine erhöhte/verminderte Neigung, an Typ-1-Diabetes, Autoimmunerkrankungen im allgemeinen, Typ-2-Diabetes, Krebs oder Mineral- und Lipidstoffwechselstörungen zu erkranken, anzeigt.
16. Verwendung eines Proteins oder Peptids nach den Ansprüchen 1 bis 7 zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung.
17. Verwendung einer Nukleinsäure nach den Ansprüchen 8 bis 10 oder eines Antisense-Oligonukleotids zu derselben zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung.
18. Pharmazeutische Zusammensetzung, die eine Nukleinsäure nach den Ansprüchen 8 bis 10 oder ein Antisense-Oligonukleotid zu derselben enthält.
19. Pharmazeutische Zusammensetzung, die ein Protein und/oder ein Peptid nach den Ansprüchen 1 bis 7 enthält.
20. Zusammensetzung nach Anspruch 18 oder 19, dadurch gekennzeichnet, dass sie ferner pharmazeutisch verträgliche Hilfs- und/oder Trägerstoffe enthält.

21. Zusammensetzung nach den Ansprüchen 18 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung zur intravenösen Applikation formuliert ist.
22. Transgener nicht-menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß dessen Keim- und somatische Zellen eine Nukleinsäure oder einen Nukleinsäureabschnitt enthalten, die/der für ein Protein mit der in SEQ ID NO:2 gezeigten Aminosäuresequenz oder einer dazu homologen Aminosäuresequenz mit einem Homologiegrad von mindestens 95%, vorzugsweise mindestens 97% und besonders bevorzugt mindestens 99% kodiert, wobei die homologe Aminosäuresequenz an Position 303 Methionin und an Position 311 Arginin aufweist.
23. Transgener Säuger nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass er das Protein im Pankreas exprimiert.
24. Säuger nach Anspruch 22 oder 23, dadurch gekennzeichnet, dass er eine Ratte ist.
25. Verwendung eines transgenen oder kongenen nicht-menschlicher Säugers, dessen Keim- und somatische Zellen eine Nukleinsäure oder einen Nukleinsäureabschnitt enthalten, die/der für ein Protein mit der in SEQ ID NO:2 gezeigten Aminosäuresequenz oder einer dazu homologen Aminosäuresequenz mit einem Homologiegrad von mindestens 95%, vorzugsweise mindestens 97% und besonders bevorzugt mindestens 99% kodiert, wobei die homologe Aminosäuresequenz an Position 303 Methionin und an Position 311 Arginin aufweist, zum Identifizieren Diabetes-protektiver Substanzen.

26. Verwendung nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass der Homologiegrad mindestens 97% beträgt.
27. Verwendung nach Anspruch 25 oder 26, dadurch gekennzeichnet, dass der Homologiegrad mindestens 99% beträgt.
28. Kit zur Durchführung eines Verfahrens nach den Ansprüchen 13 bis 15.

Figur 1**Mensch**

1 Austen et al. 1997 ^a		
2 Bushmeyer et al. 1995 ^b		
3 Galvin and Shi 1997		
4 Yang et al. 1996 ^b		
5 Shi et al. 1991		
6 Lee et al. 1995 ^b		
7 Lee et al. 1994		
8 Lewis et al. 1995 ^b		
9 Bushmeyer and Atchison 1998 ^b		

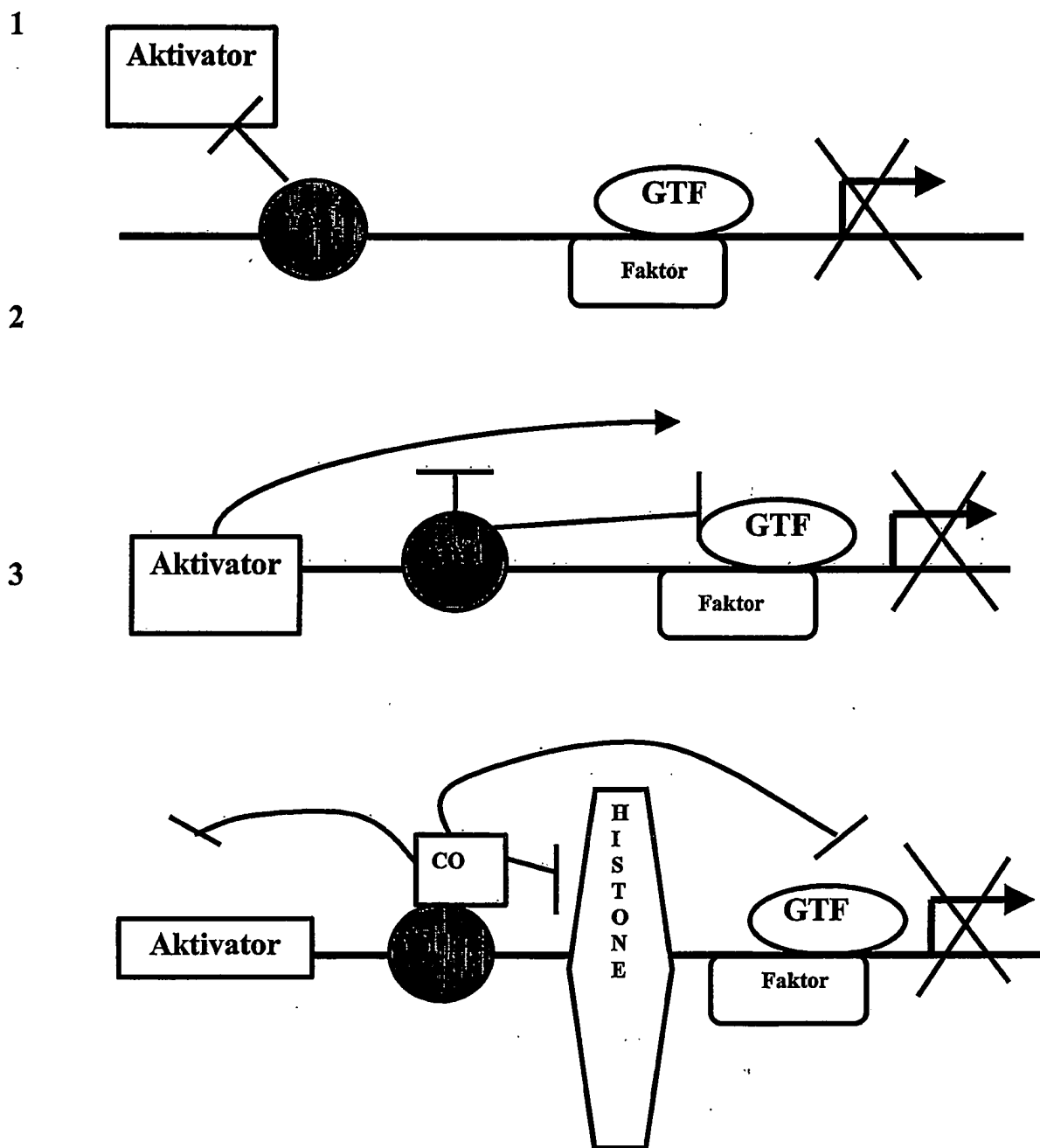
a Aktivierung und DNA-Bindungsdomänen überlappend**b** Gal⁴ DNA-Bindung Domän Fusion

Aktivierung

Repression

Figur 3

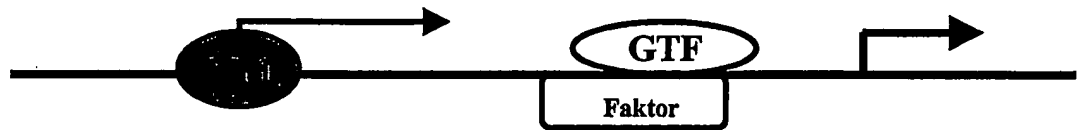
10/539535



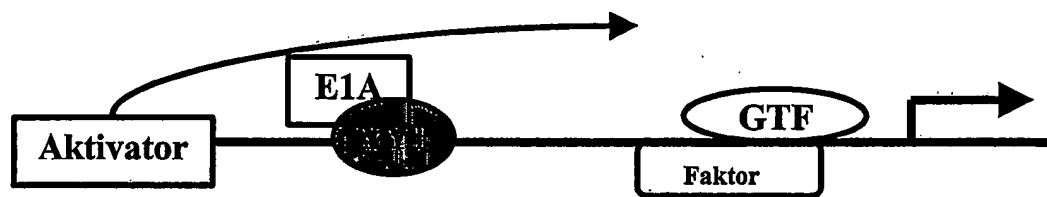
Figur 4

10/539535

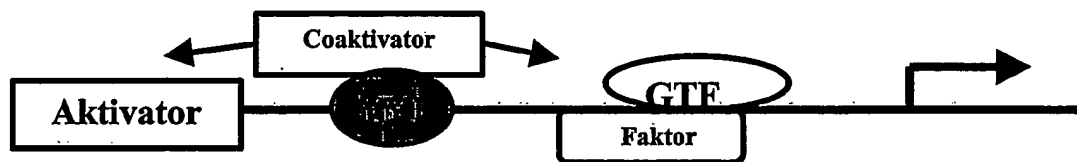
1



2

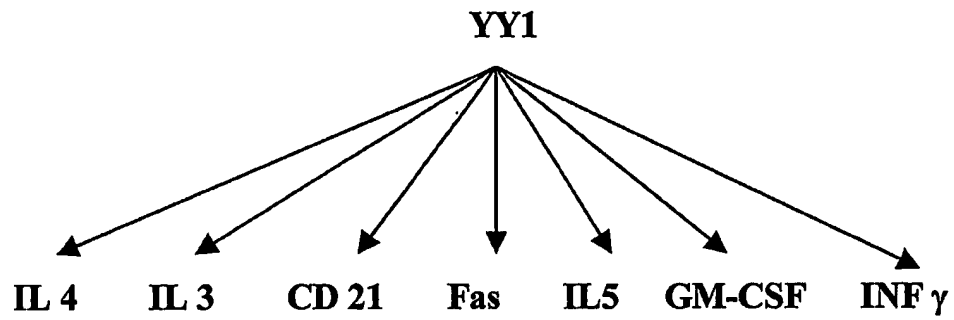


3

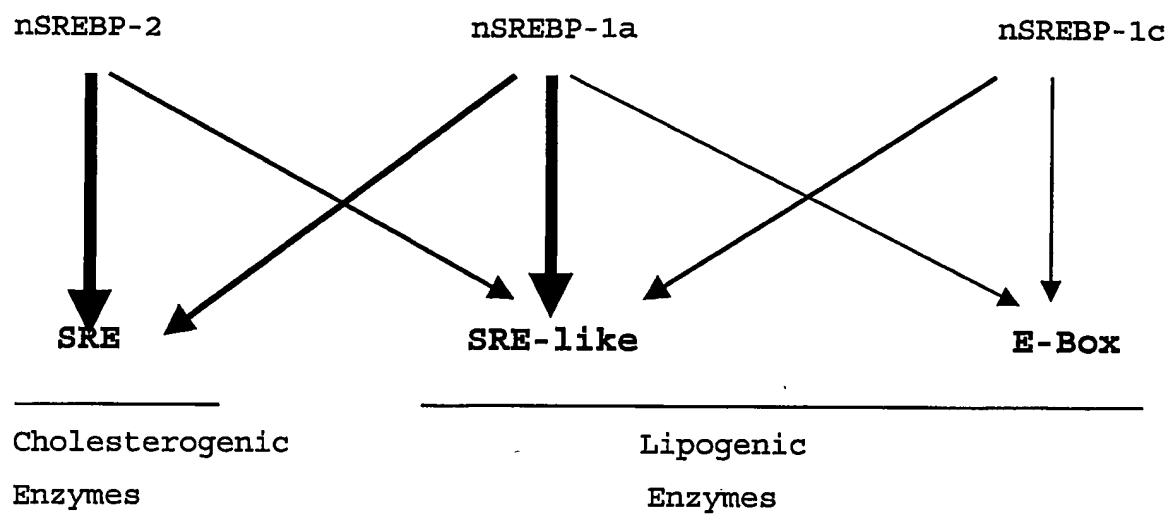


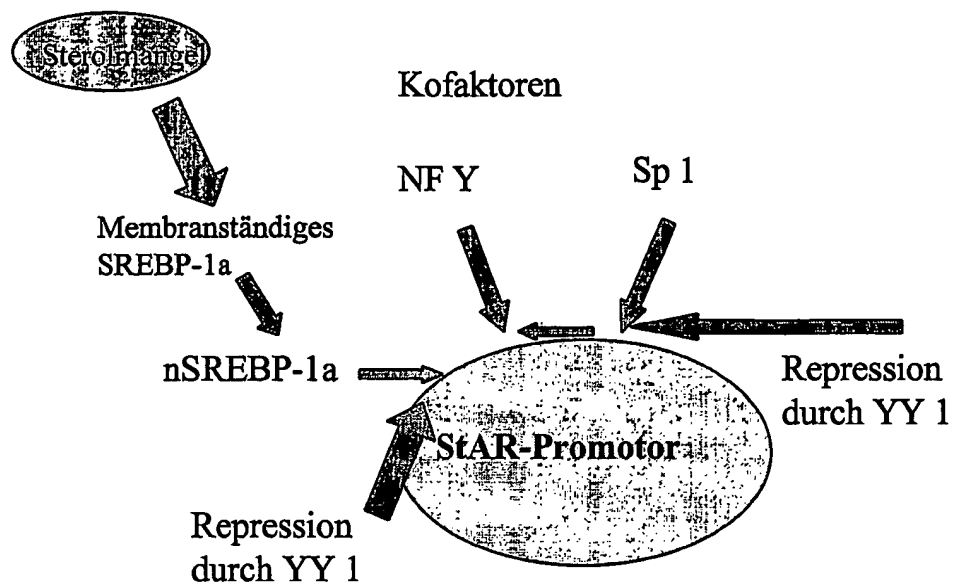
Figur 5

10/539535



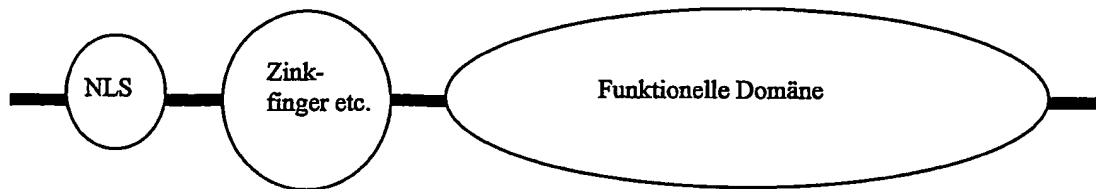
Aktivierung und Inhibierung durch YY1

Figur 6

Figur 7

Figur 8

10/539535



Figur 9**Sequenz- und Proteinvergleich**

BB-Ratte CCGCCTCCTCGCCCCGCCCTCCCGCAGCCCAGGAGCCGAGGCTGCCGCGGCCGTGGCGGCG
 SHR-Ratte CCGCCTCCTCGCCCCGCCCTCCCGCAGCCCAGGAGCCGAGGCTGCCGCGGCCGTGGCGGCG
 HOMO SAPIENS GATTTCGGCACGAGGCGCGGCCGTGGCGGCG

GAGCCCTCAGCC ATG GCC TCG GGC GAC ACC CTC TAC ATT GCC ACG GAC GGC TCG GAG ATG
 GAGCCCTCAGCC ATG GCC TCG GGC GAC ACC CTC TAC ATT GCC ACG GAC GGC TCG GAG ATG
 GAGCCCTCAGCC ATG GCC TCG GGC GAC ACC CTC TAC ATT GCC ACG GAC GGC TCG GAG ATG

M A S G D T L Y I A T D G S E M
 M A S G D T L Y I A T D G S E M
 M A S G D T L Y I A T D G S E M

CCA GCC GAG ATC GTG GAA CTG CAT GAG ATT GAG GTG GAG ACC ATC CCG GTG GAG ACT ATC
 CCA GCC GAG ATC GTG GAA CTG CAT GAG ATT GAG GTG GAG ACC ATC CCG GTG GAG ACT ATC
 CCG GCC GAG ATC GTG GAA CTG CAT GAG ATT GAG GTG GAG ACC ATC CCG GTG GAG ACT ATC

P A E I V E L H E I E V E T I P V E T I
 P A E I V E L H E I E V E T I P V E T I
 P A E I V E L H E I E V E T I P V E T I

GAG ACC ACG GTG GTG GGC GAG GAG GAG GAC GAC GAC GAA GAC GAC GAG GAT GGT GGC GGC
 GAG ACC ACG GTG GTG GGC GAG GAG GAG GAC GAC GAC GAA GAC GAC GAG GAT GGT GGC GGC
 GAG ACC ACG GTG GTG GGC GAG GAG GAG GAG GAG GAC GAG GAC GAG GAT GGT GGC GGC

E T T V V G E E E D D D E D D E D G G G
 E T T V V G E E E D D D E D D E D G G G
 E T T V V G E E E D D D E D D E D G G G

GGA GAC CAC GGT GGC GGG GGC GGC CAC --- GGG CAC GCT GGC CAC CAC CAT CAC CAC CAC
 GGA GAC CAC GGT GGC GGG GGC GGC CAC --- GGG CAC GCT GGC CAC CAC CAT CAC CAC CAC
 GGC GAC CAC GGT GGC GGG GGC GGC CAC --- GGG CAC GCT GGC CAC CAC CAT CAC CAC CAC

G D H G G G G G G H - G H A G H H H H H H
 G D H G G G G G G H - G H A G H H H H H H
 G D H G G G G G G H - G H A G H H H H H H

CAC CAC CAC CAC --- --- CCG CCC ATG ATC GCG CTG CAG CCG CTG GTC ACC GAC GAC CCG
 CAC CAC CAC CAC --- --- CCG CCC ATG ATC GCG CTG CAG CCG CTG GTC ACC GAC GAC CCG
 CAC CAC CAC CAC CAC CAC CCG CCC ATG ATC GCG CTG GAG CCG CTG GTG ACg GAC GAC CCG

H H H H - - P P M I A L Q P L V T D D P
 H H H H - - P P M I A L Q P L V T D D P
 H H H H H H P P M I A L Q P L V T D D P

ACC CAA GTG CAC CAC CAC CAA GAG GTG ATT CTG GTG CAG ACG CGC GAG GAG GTA GTG GGT
 ACC CAA GTG CAC CAC CAC CAA GAG GTG ATT CTG GTG CAG ACG CGC GAG GAG GTA GTG GGT
 ACC CAA GTG CAC CAC CTC CAG GAG GTG ATC CTG GTG CAG ACG CGC GAG GAG GTG GTG GGT

T Q V H H H Q E V I L V Q T R E E V V G
 T Q V H H H Q E V I L V Q T R E E V V G
 T Q V H H H Q E V I L V Q T R E E V V G

Figur 9 - 1. Fortsetzung

GGC	GAC	GAC	TCG	GAC	GGG	CTG	CGC	GCC	GAG	GAC	GGG	TTC	GAG	GAC	CAG	ATC	CTC	ATT	CCG
GGC	GAC	GAC	TCG	GAC	GGG	CTG	CGC	GCC	GAG	GAC	GGG	TTC	GAG	GAC	CAG	ATC	CTC	ATT	CCG
GGG	GAC	GAC	TCG	GAC	GGG	CTG	CGC	GCC	GAG	GAC	GGC	TTC	GAG	GAC	CAG	ATC	CTC	ATT	CCG
G	D	D	S	D	G	L	R	A	E	D	G	F	E	D	Q	I	L	I	P
G	D	D	S	D	G	L	R	A	E	D	G	F	E	D	Q	I	L	I	P
G	D	D	S	D	G	L	R	A	E	D	G	F	E	D	Q	I	L	I	P
GTA	CCC	GCG	CCG	GCC	GGC	GGA	GAC	GAC	GAC	TAC	ATC	GAG	CAG	ACG	CTG	GTC	ACC	GTG	GCG
GTA	CCC	GCG	CCG	GCC	GGC	GGA	GAC	GAC	GAC	TAC	ATC	GAG	CAG	ACG	CTG	GTC	ACC	GTG	GCG
GTG	CCC	GCG	CCG	GCC	GGC	GGA	GAC	GAC	GAC	TAC	ATC	GAG	CAG	ACG	CTG	GTC	ACC	GTG	GCG
V	P	A	P	A	G	G	D	D	D	Y	I	E	Q	T	L	V	T	V	A
V	P	A	P	A	G	G	D	D	D	Y	I	E	Q	T	L	V	T	V	A
V	P	A	P	A	G	G	D	D	D	Y	I	E	Q	T	L	V	T	V	A
GCG	GCC	GGC	AAG	AGC	GGT	GGC	GGG	TCT	TCG	TCG	GGC	GGC	GGC	CGC	GTT	AAG	AAG	GGC	GGC
GCG	GCC	GGC	AAG	AGC	GGT	GGC	GGG	TCT	TCG	TCG	GGC	GGC	GGC	CGC	GTT	AAG	AAG	GGC	GGC
GCG	GCC	GGC	AAG	AGC	GGT	GGC	GGG	TCT	TCG	TCG	GGC	GGC	GGC	CGC	GTT	AAG	AAG	GGC	GGC
A	A	G	K	S	G	G	G	S	S	S	G	G	G	R	V	K	K	G	G
A	A	G	K	S	G	G	G	S	S	S	G	G	G	R	V	K	K	G	G
A	A	G	K	S	G	G	G	S	S	S	G	G	G	R	V	K	K	G	G
GGC	AAG	AAG	AGC	GGC	AAG	AAG	AGT	TAC	CTG	GGC	AGC	GGG	GCC	GGC	GCG	GCG	GGC	GGT	GGC
GGC	AAG	AAG	AGC	GGC	AAG	AAG	AGT	TAC	CTG	GGC	AGC	GGG	GCC	GGC	GCG	GCG	GGC	GGT	GGC
GGC	AAG	AAG	AGC	GGC	AAG	AAG	AGT	TAC	CTG	GGC	AGC	GGG	GCC	GGC	GCG	GCG	GGC	GGT	GGC
G	K	K	S	G	K	K	S	Y	L	G	S	G	A	G	A	A	G	G	G
G	K	K	S	G	K	K	S	Y	L	G	S	G	A	G	A	A	G	G	G
G	K	K	S	G	K	K	S	Y	L	G	G	G	A	G	A	A	G	G	G
GGC	GCC	GAC	CCG	GGT	AAT	AAG	AAG	TGG	GAA	CAG	AAG	CAG	GTG	CAG	ATC	AAG	ACC	CTG	GAG
GGC	GCC	GAC	CCG	GGT	AAT	AAG	AAG	TGG	GAA	CAG	AAG	CAG	GTG	CAG	ATC	AAG	ACC	CTG	GAG
GGC	GCC	GAC	CCG	GGT	AAT	AAG	AAG	TGG	GAA	CAG	AAG	CAG	GTG	CAG	ATC	AAG	ACC	CTG	GAG
G	A	D	P	G	N	K	K	W	E	Q	K	Q	V	Q	I	K	T	L	E
G	A	D	P	G	N	K	K	W	E	Q	K	Q	V	Q	I	K	T	L	E
G	A	D	P	G	N	K	K	W	E	Q	K	Q	V	Q	I	K	T	L	E
GGC	GAG	TTC	TCG	GTC	ACC	ATG	TGG	TCT	TCA	GAT	GAA	AAA	AAA	GAT	ATT	GAC	CAT	GAA	ACA
GGC	GAG	TTC	TCG	GTC	ACC	ATG	TGG	TCT	TCA	GAT	GAA	AAA	AAA	GAT	ATT	GAC	CAT	GAA	ACA
GGC	GAG	TTC	TCG	GTC	ACC	ATG	TGG	TCT	TCA	GAT	GAA	AAA	AAA	GAT	ATT	GAC	CAT	GAA	ACA
G	E	S	V	T	M	W	S	S	D	E	K	K	D	I	D	H	E	T	
G	E	S	V	T	M	W	S	S	D	E	K	K	D	I	D	H	E	T	
G	E	S	V	T	M	W	S	S	D	E	K	K	D	I	D	H	E	T	
GTG	GTT	GAA	GAG	CAG	ATC	ATT	GGG	GAG	AAC	TCA	CCT	CCT	GAT	TAT	TCT	GAA	TAT	ATG	ACA
GTG	GTT	GAA	GAG	CAG	ATC	ATT	GGG	GAG	AAC	TCA	CCT	CCT	GAT	TAT	TCT	GAA	TAT	ATG	ACA
GTG	GTT	GAA	GAG	CAG	ATC	ATT	GGG	GAG	AAC	TCA	CCT	CCT	GAT	TAT	TCT	GAA	TAT	ATG	ACA
V	V	E	E	Q	I	I	G	E	N	S	P	P	D	Y	S	E	Y	M	T
V	V	E	E	Q	I	I	G	E	N	S	P	P	D	Y	S	E	Y	M	T
V	V	E	E	Q	I	I	G	E	N	S	P	P	D	Y	S	E	Y	M	T

10/539535

Figur 9 - 2. Fortsetzung

GGC AAG AAA CTC CCT CCT GGA GGG ATA CCT GGC ATT GAC CTC TCA GAC CCC AAG CAA CTG
 GGC AAG AAA CTC CCT CCT GGA GGG ATA CCT GGC ATT GAC CTC TCA GAC CCC AAG CAA CTG
 GGC AAG AAA CTC CCT CCT GGA GGG ATA CCT GGC ATT GAC CTC TCA GAC CCC AAG CAA CTG

G K K L P P G G I P G I D L S D P K Q L
 G K K L P P G G I P G I D L S D P K Q L
 G K K L P P G G I P G I D L S D P K Q L

GCA GAA TTT GCC AGA ATG AAG CCA AGA AAA ATT AAA GAA GAT GAT GCT CCA AGA ACA ATA
 GCA GAA TTT GCC AGA ATG AAG CCA AGA AAA ATT AAA GAA GAT GAT GCT CCA AGA ACA ATA
 GCA GAA TTT GCC AGA ATG AAG CCA AGA AAA ATT AAA GAA GAT GAT GCT CCA AGA ACA ATA

A E F A R M K P R K I K E D D A P R T I
 A E F A R M K P R K I K E D D A P R T I
 A E F A R M K P R K I K E D D A P R T I

GCT TGC CCT CAT AAA GGC TGC ACA AAG ATG TTC AGG GAT AAC TCT GCT ATG AGA AAG CAT
 GCT TGC CCT CAT AAA GGC TGC ACA AAG AGG TTC AGG GAT AAC TCT GCT ATG AAA AAG CAT
 GCT TGC CCT CAT AAA GGC TGC ACA AAG ATG TTC AGG GAT AAC TCT GCT ATG AGA AAG CAT

* Zinkfinger

A C P H K G C T K M F R D N S A M R K H
 A C P H K G C T K R F R D N S A M K K H
 A C P H K G C T K R F R D N S A M K K H

CTG CAC ACC CAC GGT CCC AGA GTC CAC GTC TGT GCA GAA TGT GGC AAA GCG TTC GTT GAG
 CTG CAC ACC CAC GGT CCC AGA GTC CAC GTC TGT GCA GAA TGT GGC AAA GCG TTC GTT GAG
 CTG CAC ACC CAC GGT CCC AGA GTC CAC GTC TGT GCA GAA TGT GGC AAA GCG TTC GTT GAG

L H T H G P R V H V C A E C G K A F V E
 L H T H G P R V H V C A E C G K A F V E
 L H T H G P R V H V C A E C G K A F V E

AGC TCA AAG CTA AAA CGA CAC CAG CTG GTT CAT ACT GGA GAA AAG CCC TTT CAG-GTAGAGC
 AGC TCA AAG CTA AAA CGA CAC CAG CTG GTT CAT ACT GGA GAA AAG CCC TTT CAG-GTAGAGC
 AGC TCA AAG CTA AAA CGA CAC CAG CTG GTT CAT ACT GGA GAA AAG CCC TTT CAG-----

S S K L K R H Q L V H T G E K P F Q
 S S K L K R H Q L V H T G E K P F Q
 S S K L K R H Q L V H T G E K P F Q

CAGTTCCTGTTCCTCCAACTGCAAGCTAGGGTGCTGGTCAGGGTGGTTGATATCAAGCACTATGGGGCACCAGT
 CAGTTCCTGTTCCTCCAACTGCAAGCTAGGGTGCTGGTCAGGGTGGTTGATATCAAGCACTATGGGGCACCAGT

TGGGGTATTTTATTCCCATCCCTCCTGTCTGCTTGGGTTCTGGTTACTGCTCGGGACTGCAGGTGTTACAGAT
 TGGGGTATTTTATTCCCATCCCTCCTGTCTGCTTGGGTTCTGGTTACTGCTCGGGACTGCAGGTGTTACAGAT

GGGGGTGGAGGGATTATGCGAAGCACCCCCACACTAAATTTCTAGCAGGTTTACAAAACTCAACAGTTTGT
 GGGGTGGAGGGATTATGCGAAGCACCCCCACACTAAATTTCTAGCAGGTTTACAAAACTCAACAGTTTGT

TGTAGTGAGTAGTGTGTTGAATTACTGATAGAGTGCTTATAAGTGCTGTTGGCTACAGCTCCAGGTGACACTTG
 TGTAGTGAGTAGTGTGTTGAATTACTGATAGAGTGCTTATAAGTGCTGTTGGCTACAGCTCCAGGTGACACTTG

Figur 9 - 3. Fortsetzung

GTGCTGCTTATAGAAGACCGTGAGTTGACAGTTGGCATCACTAAATATCTTAATCATCTGTAGTCTACTTCCT
 GTGCTGCTTATAGAAGACCGTGAGTTGACAGTTGGCATCACTAAATATCTTAATCATCTGTAGTCTACTTCCT

AGAGTGTCTCTGAAAACACTCAAGCTGTAAATTTGCACTCAGCACAGCCCTTCTGTTTCTCAAGAACTAGCCAT
 AGAGTGTCTCTGAAAACACTCAAGCTGTAAATTTGCACTCAGCACAGCCCTTCTGTTTCTCAAGAACTAGCCAT

GGGTTGTTAGTATCAGAGATCCCAGTGTGTCAAGTTCTAAAATACCCCTCAGAAAGGGTTCCAGACGAGGAAGGAGG
 GGGTTGTTAGTATCAGAGATCCCAGTGTGTCAAGTTCTAAAATACCCCTCAGAAAGGGTTCCAGACGAGGAAGGAGG

CaTGCTCAGCAGAATAGTAGGTGGTTTCCATCTAAGCAGTGAGCCATCGATCCCCAGGTTCTGGTCTCATTTCG
 CGTGCTCAGCAGAATAGTAGGTGGTTTCCATCTAAGCAGTGAGCCATCGATCCCCAGGTTCTGGTCTCATTTCG

CAAGAGGGTTGATATCTGGTTTTTCCTTGACAG -TGC ACA

CAAGAGGGTTGATATCTGGTTTTTCCTTGACAG -TGC ACA

----- -TGC ACA

C T

C T

C T

TTC GAA GGC TGC GGG AAG CGC TTT TCA CTG GAC TTC AAT TTG CGC ACG CAT GTG CGA ATC
 TTC GAA GGC TGC GGG AAG CGC TTT TCA CTG GAC TTC AAT TTG CGC ACG CAT GTG CGA ATC
 TTC GAA GGC TGC GGG AAG CGC TTT TCA CTG GAC TTC AAT TTG CGC ACG CAT GTG CGA ATC

F E G C G K R F S L D F N L R T H V I
 F E G C G K R F S L D F N L R T H V I
 F E G C G K R F S L D F N L R T H V I

CAT ACC GGA GAC AGG CCC TAT GTG TGC CCC TTC GAC GGT TGT AAT AAG AAG TTT GCT CAG
 CAT ACC GGA GAC AGG CCC TAT GTG TGC CCC TTC GAC GGT TGT AAT AAG AAG TTT GCT CAG
 CAT ACC GGA GAC AGG CCC TAT GTG TGC CCC TTC GAC GGT TGT AAT AAG AAG TTT GCT CAG

H T G D R P Y V C P F D G C N K K F A Q
 H T G D R P Y V C P F D G C N K K F A Q
 H T G D R P Y V C P F D G C N K K F A Q

TCA ACT AAC CTG AAA TCT CAC ATC TTA ACA CAC GCT AAA GCC AAA AAC AAC CAG TGA
 TCA ACT AAC CTG AAA TCT CAC ATC TTA ACA CAC GCT AAA GCC AAA AAC AAC CAG TGA
 TCA ACT AAC CTG AAA TCT CAC ATC TTA ACA CAC GCT AAA GCC AAA AAC AAC CAG TGA

Zinkfinger *

S T N L K S H I L T H A K A K N N Q *
 S T N L K S H I L T H A K A K N N Q *
 S T N L K S H I L T H A K A K N N Q *

AAAGAAGAGAGAAGACCTTCTCGACCCCGGGAAGCCTCTTCAGGAGTGTGATTGGGAATAAATATGCCTCTC
 AAAGAAGAGAGAAGACCTTCTCGACCCCGGGAAGCCTCTTCAGGAGTGTGATTGGGAATAAATATGCCTCTC
 AAAGAAGAGAGAAGACCTTCTCGACCC-GGGAAGCCTCTTCAGGAGTGTGATTGGGAATAAATATGCCTCTC

CTTTGTATATTATTTCTAGGAAGAATTTTAAAAATGAATCCTACACACTTAAGGGACATG
 CTTTGTATATTATTTCTAGGAAGAATTTTAAAAATGAATCCTACACACTTAAGGGACATG
 CTTTGTATATTATTTCTAGGAAGAATTTTAAAAATGAATCCTACACACTTAAGGGACATG

Figur 9 - 4. Fortsetzung

TTTGTATAAAGTAGTAAAAATTTAAAAAATACTTTAATAAGATGACATTGCTAAGATGC
TTTGTATAAAGTAGTAAAAATTTAAAAAATACTTTAATAAGATGACATTGCTAAGATGC
TTTGTATAAAGTAGTAAAAATTTAAAAA - TACTTTAATAAGATGACATTGCTAAGATGC

TCTATCTTGCTCTGTAATCTCGTTTCAAAAACAAGGTGTTTTGTAAAGTGTGGCCCCAA
TCTATCTTGCTCTGTAATCTCGTTTCAAAAACAAGGTGTTTTGTAAAGTGTGGTCCCAA
TATATCTTGCTCTGTAATCTCGTTTCAAAAACAAGGTGTTTTGTAAAGTGTGGTCCCAA

CAGGAGGACAATTATGAACCTTCGCATCAAAAGACAATTCTTTATACAACAGTGCTAAAA
CAGGAGGACAATTATGAACCTTCGCATCAAAAGACAATTCTTTATACAACAGTGCTAAAA
CAGGAGGACAATTATGAACCTTCGCATCAAAAGACAATTCTTTATACAACAGTGCTAAAA

ATG

ATG

ATG

Figur 10

Proteinvergleich

BB
SHR
Homo sapiens

MASGDTLYIATDGSEMPAEIVELHEIEVETIPVETIETTIVVGEEDDDDDDDGGGGGDHGGGGGH-GHAGHHHHHHHHHH
MASGDTLYIATDGSEMPAEIVELHEIEVETIPVETIETTIVVGEEDDDDDDDGGGGGDHGGGGGH-GHAGHHHHHHHHHH
MASGDTLYIATDGSEMPAEIVELHEIEVETIPVETIETTIVVGEEDDDDDDDGGGGGDHGGGGGH-GHAGHHHHHHHHHH

PPMIALQPLVTDDPTQVHHHQEVILVQTREEVVGDDSDGLRAEDGFEDQILIPVPAPAGGDDDYIEQTLVTVAAGK
PPMIALQPLVTDDPTQVHHHQEVILVQTREEVVGDDSDGLRAEDGFEDQILIPVPAPAGGDDDYIEQTLVTVAAGK
HPPMIALQPLVTDDPTQVHHHQEVILVQTREEVVGDDSDGLRAEDGFEDQILIPVPAPAGGDDDYIEQTLVTVAAGK

SSGGSSSSGGGRVKKGGGKSGKKSYLEGAGAGAAGGGGADPGNKKWEQKQVQIKTLEGEFSVTMWSSDEKKDIDHETVVEE
SSGGSSSSGGGRVKKGGGKSGKKSYLEGAGAGAAGGGGADPGNKKWEQKQVQIKTLEGEFSVTMWSSDEKKDIDHETVVEE
SSGGSSSSGGGRVKKGGGKSGKKSYLEGAGAGAAGGGGADPGNKKWEQKQVQIKTLEGEFSVTMWSSDEKKDIDHETVVEE

QIIGENSPDYSEYMTGKKLPPGGIPGIDLSDPKQLAEFARMKPRKIKEDDAPRTIA
QIIGENSPDYSEYMTGKKLPPGGIPGIDLSDPKQLAEFARMKPRKIKEDDAPRTIA
QIIGENSPDYSEYMTGKKLPPGGIPGIDLSDPKQLAEFARMKPRKIKEDDAPRTIA

*Zinkfinger

CPHKGCTKFRDNSAMRKHLHTGPRVHVCAECGKAFVSSSKLRHQLVHTGEKPFQCTFEGCGKRFSLDFNLRTHVGIH
CPHKGCTKFRDNSAMRKHLHTGPRVHVCAECGKAFVSSSKLRHQLVHTGEKPFQCTFEGCGKRFSLDFNLRTHVGIH
CPHKGCTKFRDNSAMRKHLHTGPRVHVCAECGKAFVSSSKLRHQLVHTGEKPFQCTFEGCGKRFSLDFNLRTHVGIH

Zinkfinger*

TGDRPYVCPFDGCNKKFAQSTNLKSHILTH
TGDRPYVCPFDGCNKKFAQSTNLKSHILTH
TGDRPYVCPFDGCNKKFAQSTNLKSHILTH

AKAKNNQ*
AKAKNNQ*
AKAKNNQ*

n=411/414

Figur 11**Yyl-Primer**

Bezeichnung	Position	Primersequenzen
K823-F (Promotor)		CAC AGG CGT TTC TCG TCA GAG
K825-R (Promotor)		AAT ACC AAC TCC TCA ACC CCG A
K884-F	-104	CTT CCT CCC TCT GCC TTC CTT
K801-F	55-75	GAG ATC GTG GAA CTG CAT GAG
K827-R	127-150	GTC TTC GTC GTC GTC CTC CTC CTC
K814-F	417-437	CGG AGA CGA CGA CTA CAT CGA
K806-R	428-452	GTG ACC AGC GTC TGC TCG ATG TAG T
K804-R	529-550	CCA GGT AAC TCT TCT TGC CGC
K805-R	589-610	G TT CCC ACT TCT TAT TAC CCG G
K828-F	627-648	CAA GAC CCT GGA GGG CGA GTT C
K830-F	697-721	ACA GTG GTT GAA GAG CAG ATC ATT G
K829-R	690-722	CCA ATG ATC TGC TCT TCA ACC AC
K831-F	839-866	GCC AAG AAA AAT TAA AGA AGA TGA TGC
K832-R	856-881	GCT ATT GTT CTT GGA GCA TCA TCT TC
K815-F	997-1021	GAG AGC TCA AAG CTA AAA CGA CAC C
K833-R	1026-1050	AAA GGG CTT TTC TCC AGT ATG AAC C
K817-R	1077-1099	AAT TGA AGT CCA GTG AAA AGG GC
K816-F	1105-1126	ACG CAT GTG CGA ATC CAT ACC G
K870-R	1346-1372	CAA AAC ATG TCC CTT AAG TGT GTA GGA
K818-R	1501-1528	AAT TGT AAG CAA CAG GTG AGC TTC ATG
K821-F (Intron 3)		GCG AAG CAC CCC CAC ACT AAA TTT C
K874-F (Intron 3)		GCT TAT AAG TGC TGT TGG CTA CAG CT
K875-R (Intron 3)		GTC ACC TGG AGC TGT AGC CAA C

F1	10	1	TCACTGGACTTCAATTTGCGC	(1084)
F2	12	1	TTTTCACTGGACTTCAATTTGCG	(1081)
F3	12	1	ACCAGATCCTCATTCCGGTACC	(383)
F4	14	1	CCCTTTCAGTGACATTCGAA	(1045)
F5	15	1	GACGACGAAGACGACGAGGAT	(139)
F6	17	1	GAGAGCTCAAAGCTAAAACGACACC	(997)
F7	19	1	GGAGACGACGACTACATCGAGC	(418)
F8	22	1	CGGAGACGACGACTACATCGA	(417)
F9	23	1	TGAGAGCTCAAAGCTAAAACGACAC	(996)
F10	24	1	GAGGACCAGATCCTCATTCCG	(379)
F11	26	1	AACTCCCTCCTGGAGGGATACC	(767)
F12	27	1	GAGACGACGACTACATCGAGCAG	(419)
F13	29	2	GAGGAGGACGACGACGAAGAC	(130)
F14	30	1	TTGAGAGCTCAAAGCTAAAACGACA	(995)
F15	30	1	ACCCTCTACATTGCCACGGAC	(16)
F16	30	1	ACTACATCGAGCAGACGCTGGT	(428)
F17	34	1	GAGCTCAAAGCTAAAACGACACCA	(999)
F18	35	1	TTCAGTGACATTCGAAGGCT	(1049)
F19	36	2	TGGAGACTATCGAGACCACGGT	(98)
F20	37	1	TTTCAGTGACATTCGAAGGC	(1048)
F21	39	1	GTGCGAATCCATACCGGAGAC	(1111)
F22	41	1	GAGGTGATTCTGGTGACAGC	(301)
F23	41	1	ACTCCCTCCTGGAGGGATACCT	(768)
F24	41	2	GTGGAGACTATCGAGACCACGG	(97)
F25	41	1	AGAGGTGATTCTGGTGACAGC	(300)
F26	42	1	TGAAATCTCACATCTTAACACACGCT	(1190)
F27	43	2	TACATCGAGCAGACGCTGGTC	(430)
F28	43	1	ACGACTACATCGAGCAGACGCT	(425)
F29	43	1	GAAACTCCCTCCTGGAGGGATAC	(765)
F30	49	1	CTGCACAAAGATGTTTCAGGGATAAC	(897)

Figur 11 - 1. Fortsetzung

F31	52	1	AAAACGACACCAGCTGGTTCATAC	(1011)
F32	52	1	TAAAACGACACCAGCTGGTTCATAC	(1010)
F33	53	1	AGAAGAGCGGCAAGAAGAGTTACC	(524)
F34	53	1	ACCTGAAATCTCACATCTTAACACACG	(1187)
F35	53	1	CCTGAAATCTCACATCTTAACACACG	(1188)
F36	55	1	GACACCAGCTGGTTCATACTGGA	(1016)
F37	55	2	GGTGGAGACTATCGAGACCACG	(96)
F38	55	1	AGACGACGACTACATCGAGCAGA	(420)
F39	57	1	CAGTGGTTGAAGAGCAGATCATTG	(698)
F40	57	1	ACAGTGGTTGAAGAGCAGATCATTG	(697)
F41	57	1	GGTTGAAGAGCAGATCATTGGG	(702)
F42	58	1	GGTCCCAGAGTCCACGTCTGT	(952)
F43	59	1	TGCACAAAGATGTTTCAGGGATAACT	(898)
F44	60	1	GATGCTCCAAGAACAATAGCTTGC	(862)
F45	62	1	GTCCCAGAGTCCACGTCTGTG	(953)
F46	67	1	GCTTTTCACTGGACTTCAATTTGC	(1079)
F47	67	1	AGTGGTTGAAGAGCAGATCATTGG	(699)
F48	67	1	GTGGTTGAAGAGCAGATCATTGG	(700)
F49	71	1	AGAGCGGCAAGAAGAGTTACCTG	(527)
F50	71	1	TCACATCTTAACACACGCTAAAGCC	(1197)
F51	72	1	ATCTCACATCTTAACACACGCTAAAGC	(1194)
F52	73	1	CTGAAATCTCACATCTTAACACACGC	(1189)
F53	74	1	ACGACACCAGCTGGTTCATACTG	(1014)
F54	76	1	AGATATTGACCATGAAACAGTGGTTGA	(681)
F55	76	1	GATATTGACCATGAAACAGTGGTTGA	(682)
F56	76	1	GAGGGATACCTGGCATTGACCT	(779)
F57	77	1	AGACCATCCCGGTGGAGACTAT	(86)
F58	78	1	GAAGAGCGGCAAGAAGAGTTACCT	(525)
F59	78	3	GGAGACTATCGAGACCACGGTG	(99)
F60	82	1	GGTTCGAGGACCAGATCCTCA	(374)
F61	83	2	GAGCAGATCATTGGGGAGAACTC	(709)
F62	87	1	GAAGATGATGCTCCAAGAACAATAGC	(856)
F63	88	1	CGCTAAAGCCAAAAACAACCAGT	(1212)
F64	88	1	ATACCGGAGACAGGCCCTATGT	(1121)
F65	89	1	CAATAGCTTGCCCTCATAAAGGC	(875)
F66	89	1	AAGATATTGACCATGAAACAGTGGTTG	(680)
F67	89	1	ACAATAGCTTGCCCTCATAAAGGC	(874)
F68	92	1	AGAAAAGCCCTTTCAGTGCACA	(1038)
F69	95	1	ATATTGACCATGAAACAGTGGTTGAAG	(683)
F70	95	1	GCGGCAAGAAGAGTTACCTGG	(530)
F71	95	1	TATTGACCATGAAACAGTGGTTGAAG	(684)
F72	95	1	ATTGACCATGAAACAGTGGTTGAAG	(685)
F73	95	1	TTGACCATGAAACAGTGGTTGAAG	(686)
F74	96	1	GAACAATAGCTTGCCCTCATAAAGG	(872)
F75	96	1	AGAACAATAGCTTGCCCTCATAAAGG	(871)
F76	98	1	ACCTCTCAGACCCCAAGCAACT	(797)
F77	99	1	ACGCTAAAGCCAAAAACAACCAG	(1211)
F78	101	1	AAGATGATGCTCCAAGAACAATAGCTT	(857)
F79	101	1	AAACGACACCAGCTGGTTCATACT	(1012)
F80	102	1	CGACGGTTGTAATAAGAAGTTTGCTC	(1152)
F81	103	1	CAAGAACAATAGCTTGCCCTCATAAA	(869)
F82	103	1	GGAACAGAAGCAGGTGCAGATC	(606)
F83	106	1	AAAAGCCCTTTCAGTGCACATTC	(1040)
F84	106	2	TCTGCTATGAGAAAGCATCTGCAC	(922)
F85	106	1	AAACAGTGGTTGAAGAGCAGATCATT	(695)
F86	106	1	TTCGACGGTTGTAATAAGAAGTTTGC	(1150)
F87	106	1	AGCGTTTCGTTGAGAGCTCAAAG	(987)
F88	106	1	GCCCCCTTCGACGGTTGTAATA	(1145)
F89	107	1	CAACTGGCAGAATTTGCCAGA	(814)
F90	107	1	AGTTCTCGGTCAACATGTGGTC	(644)
F91	108	1	TGAGAAAGCATCTGCACACCC	(929)

10/539535

Figur 11 - 2. Fortsetzung

F92	108	1	ATGAGAAAGCATCTGCACACCC	(928)
F93	108	1	TATGAGAAAGCATCTGCACACCC	(927)
F94	111	1	GAGTTCTCGGTCACCATGTGGT	(643)
F95	111	1	CACCACCACCAAGAGGTGATTC	(289)
F96	111	1	GACGACGACTACATCGAGCAGAC	(421)
F97	112	1	CCCGGTGGAGACTATCGAGAC	(93)
F98	112	1	CAGAAGCAGGTGCAGATCAAGAC	(610)
F99	112	1	GCTAAAGCCAAAAACAACCAGTGA	(1213)
F100	113	1	GACCTCTCAGACCCCAAGCAA	(796)
R1	3	1	GCAAACTTCTTATTACAACCGTCGAA	(1175)
R2	4	1	ACATAGGGCCTGTCTCCGGTAT	(1142)
R3	4	1	AGCAAACTTCTTATTACAACCGTCGA	(1176)
R4	6	1	AGCTTTGAGCTCTCAACGAACG	(1010)
R5	8	1	GAGCAAACTTCTTATTACAACCGTCG	(1177)
R6	8	1	CTTTGAGCTCTCAACGAACGCT	(1008)
R7	9	1	GGTTGTTTTTGGCTTTAGCGTGT	(1231)
R8	10	1	CTGGTTGTTTTTGGCTTTAGCGT	(1233)
R9	11	1	CCTGTCTCCGGTATGGATTCTG	(1134)
R10	12	1	CTGTCTCCGGTATGGATTCTGC	(1133)
R11	12	1	GTCTCCGGTATGGATTCTGCAC	(1131)
R12	12	1	AGCGTCTGCTCGATGTAGTCGT	(446)
R13	13	1	TTCTGTTCCCACTTCTTATTACCCG	(614)
R14	15	2	TCTGCTCGATGTAGTCGTCGTCT	(442)
R15	15	1	ACTGGTTGTTTTTGGCTTTAGCG	(1234)
R16	16	4	GTCTGCTCGATGTAGTCGTCGTC	(443)
R17	16	4	ATCCTCGTCGTCTTCGTCGTC	(159)
R18	17	1	CAGTATGAACCAGCTGGTGTCTGT	(1036)
R19	17	1	TTGAGCTCTCAACGAACGCTTT	(1006)
R20	19	1	AGACCACATGGTGACCGAGAAC	(666)
R21	19	1	CTTCTTATTACCCGGGTCGGC	(603)
R22	20	1	CTGCTCGATGTAGTCGTCGTCTC	(441)
R23	21	1	TCGATGTAGTCGTCGTCTCCG	(437)
R24	22	1	TTTGAGCTCTCAACGAACGCTT	(1007)
R25	22	1	CCACTTCTTATTACCCGGGTCG	(606)
R26	22	1	CACTTCTTATTACCCGGGTCGG	(605)
R27	22	1	GACCAGCGTCTGCTCGATGTA	(450)
R28	23	1	AATTGAAGTCCAGTGAAAAGCGC	(1099)
R29	23	1	TGAACCAGCTGGTGTCTGTTTAG	(1031)
R30	23	1	GACCACATGGTGACCGAGAACT	(665)
R31	25	1	AACTTCTTATTACAACCGTCGAAGGG	(1172)
R32	25	1	TGTTCCCACTTCTTATTACCCGG	(611)
R33	26	3	CCCAGGTAACCTCTTCTTGCCG	(551)
R34	26	1	AGAGGTCAATGCCAGGTATCCC	(802)
R35	26	2	CCAGGTAACCTCTTCTTGCCGC	(550)
R36	27	1	TTGAAGTCCAGTGAAAAGCGCT	(1097)
R37	29	1	TGAGGATCTGGTCCTCGAACC	(394)
R38	29	1	CACATGGTGACCGAGAACTCG	(662)
R39	29	1	GTATGAACCAGCTGGTGTCTGTTTT	(1034)
R40	30	1	TCAATCTCATGCAGTTCCACGAT	(80)
R41	30	1	TCAATCTCATGCAGTTCCACGA	(80)
R42	30	1	AGTATGAACCAGCTGGTGTCTGTTT	(1035)
R43	32	1	GGTCTCGATAGTCTCCACCGG	(114)
R44	33	1	AAGACCACATGGTGACCGAGAA	(667)
R45	33	1	CAATCTCATGCAGTTCCACGATC	(79)
R46	34	1	GGAATGAGGATCTGGTCCTCG	(398)
R47	34	2	TTCCCACTTCTTATTACCCGGGT	(609)
R48	34	2	TGAAGTCCAGTGAAAAGCGCTT	(1096)
R49	35	1	GCTCGATGTAGTCGTCTCTCC	(439)

10/539535

Figur 11 - 3. Fortsetzung

R50	36	1	GTATGAACCAGCTGGTGTCTGTTTTTA	(1034)
R51	36	1	TTCCCACTTCTTATTACCCGGG	(609)
R52	42	1	GAATGAGGATCTGGTCCTCGAAC	(397)
R53	43	1	GAGGTCAATGCCAGGTATCCCT	(801)
R54	44	1	GTGGTCTCGATAGTCTCCACCG	(116)
R55	44	1	AGGTAACCTTCTTGCCGCTCTTC	(548)
R56	45	1	CACATTCTGCACAGACGTGGA	(982)
R57	46	1	AAAGGGCTTTTCTCCAGTATGAACC	(1050)
R58	47	2	ACCATCCTCGTCTTTCGTC	(162)
R59	48	1	GCTTCTGTTCCTTCTTATTACCC	(616)
R60	48	1	CACATTCTGCACAGACGTGGAC	(982)
R61	49	1	CAGGTAACCTTCTTGCCGCTCT	(549)
R62	49	1	GATGCTTTCTCATAGCAGAGTTATCCC	(940)
R63	49	1	CTGAAGACCACATGGTGACCG	(670)
R64	50	2	CCTGCTTCTGTTCCTTCTTATTAC	(619)
R65	52	1	ACCAGCGTCTGCTCGATGTAGT	(449)
R66	53	1	TCTTATTACAACCGTCGAAGGGG	(1168)
R67	53	1	TTGTTTTTGGCTTTAGCGTGTGTT	(1229)
R68	54	1	ACTGAAAGGGCTTTTCTCCAGTATG	(1054)
R69	55	1	CACTGAAAGGGCTTTTCTCCAGTAT	(1055)
R70	57	1	GAGGTGAGTTCTCCCAATGATC	(736)
R71	58	1	GGTACCGGAATGAGGATCTGGT	(404)
R72	62	1	GTCTCGATAGTCTCCACCGGG	(113)
R73	63	1	CTTCAACCACTGTTTCATGGTCAATA	(709)
R74	64	1	CCTTTATGAGGGCAAGCTATTGTTC	(896)
R75	64	1	CTTCAACCACTGTTTCATGGTCAATAT	(709)
R76	65	1	TTTTTGGCTTTAGCGTGTGTTAAGAT	(1226)
R77	66	1	TTGTTTTTGGCTTTAGCGTGTGTTA	(1229)
R78	69	1	CTTGGGGTCTGAGAGGTCAATG	(813)
R79	71	1	GTCCGTGGCAATGTAGAGGGT	(36)
R80	71	1	TCTGGCAAATTCTGCCAGTTG	(834)
R81	72	1	TCACTGGTTGTTTTTGGCTTTAGC	(1236)
R82	72	1	CTTTGTGCAGCCTTTATGAGGG	(906)
R83	73	1	GTTGTTTTTGGCTTTAGCGTGTGT	(1230)
R84	74	1	TGAAAGGGCTTTTCTCCAGTATGA	(1052)
R85	75	1	GCAAGCTATTGTTCTTGAGCATC	(885)
R86	76	1	GCCTTTATGAGGGCAAGCTATTG	(897)
R87	76	1	GCTTGGGGTCTGAGAGGTCAAT	(814)
R88	76	1	CCAATGATCTGCTCTTCAACCAC	(722)
R89	77	1	CCACCGTGGTCTCGATAGTCTC	(121)
R90	78	1	CTGCTTCTGTTCCCACTTCTTATTACC	(618)
R91	80	1	TTGGCTTCATTCTGGCAAATTC	(844)
R92	81	1	CTTCAACCACTGTTTCATGGTCAAT	(709)
R93	81	1	AATCTCATGCAGTTCCACGATCTC	(78)
R94	82	1	CTTCAACCACTGTTTCATGGTCAA	(709)
R95	83	1	GGGCTTTTCTCCAGTATGAACCA	(1047)
R96	83	2	ACCACATGGTGACCGAGAATC	(664)
R97	84	1	GTGCAGATGCTTTCTCATAGCAGA	(945)
R98	84	1	TGTGCAGATGCTTTCTCATAGCAG	(946)
R99	85	1	CATTCTGCACAGACGTGGACTC	(980)
R100	85	1	TCTGAGAGGTCAATGCCAGGTATC	(806)

10/539535

Figur 12**Verkürzter Zinkfinger von BB.6S**

1. Nukleinsäuresequenz des „verkürzten“ Zinkfingers bei BB.6S (die durchgestrichenen Nukleotide fehlen, nur die unterstrichenen Nukleotide kodieren für Aminosäuren des Proteins in der zweiten Bande)

```

1  ATGGCCTCGG GCGACACCCT CTACATTGCC ACGGACGGCT CGGAGATGCC
51  AGCCGAGATC GTGGAAC TGC ATGAGATTGA GGTGGAGACC ATCCCGGTGG
101 AGACTATCGA GACCACGGTG GTGGGCGAGG AGGAGGACGA CGACGAAGAC
151 GACGAGGATG GTGGCGGCGG AGACCACGGT GGC GG GGGCG GCCACGGGCA
201 CGCTGGCCAC CACCATCACC ACCACCACCA CCACCACCCG CCCATGATCG
251 CGCTGCAGCC GCTGGTCACC GACGACCCGA CCCAAGTGCA CCACCACCAA
301 GAGGTGATTC TGGTGCAGAC GCGCGAGGAG GTAGTGGGTG GCGACGACTC
351 GGACGGGCTG CGCGCGGAGG ACGGGTTCGA GGACCAGATC CTCATTCCGG
401 TACCCGCGCC GGCCGGCGGA GACGACGACT ACATCGAGCA GACGCTGGTC
451 ACCGTGGCGG CGGCCGCGCA GAGCGGTGGC GGGTCTTCGT CGGGCGGCGG
501 CCGCGTTAAG AAGGGCGGCG GCAAGAAGAG CGGCAAGAAG AGTTACCTGG
551 GCAGCGGGGC CGGCGCGGCG GCGCGTGGCG GCGCCGACCC GGGTAATAAG
601 AAGTGGGAAC AGAAGCAGGT GCAGATCAAG ACCCTGGAGG GCGAGTTCTC
651 GGTCACCATG TGGTCTTCAG ATGAAAAAAA AGATATTGAC CATGAAACAG
701 TGGTTGAAGA GCAGATCATT GGGGAGAACT CACCTCCTGA TTATTCTGAA
751 TATATGACAG GCAAGAAACT CCTCCTGGA GGGATACCTG GCATTGACCT
801 CTCAGACCCC AAGCAACTGG CAGAATTGTC CAGAATGAAG CCAAGAAAAA
851 TTAAAGAAGA TGATGCTCCA AGAACAATAG CTTGCCCTCA TAAAGGCTGG
901 ACAAAGATCT TCAGCGATAA CTCTGCTATG AGAAAGCATG TGCAGAGCCA
951 GGGTGGGAGA GTCCAGCTCT GTGCAGAAATG TGGCAAGAGC TTGCTTGAGA
1001 GCTCAAAAGCT AAAGCGACAC CAGCTGCTTC ATACTGGAGA AAAGCGCTTT
1051 CAGTGACAT TCGAAGGCTG CGGGAAGCGC TTTTCAC TGG ACTTCAATTT
1101 GCGCACGCAT GTGCGAATCC ATACCGGAGA CAGGCCCTAT GTGTGCCCTT
1151 TGCACGGTTG TAATAAGAAG TTTGCTCAGT CAACTAACCT GAAATCTCAC
1201 ATCTTAACAC ACGCTAAAGC CAAAAACAAC CAGTGA

```

2. Proteinsequenz des „verkürzten“ Zinkfingers bei BB.6S (die durchgestrichenen Nukleotide fehlen, nur die unterstrichenen Nukleotide sind in der zweiten Bande vorhanden):

```

CPHK G C T K M F R D N S A M R K H L H T H G P R V H V
G A E C G K A P V E S S K L K R H Q L V H T G E K P F Q
CTFEGCGKRESLDENLRTHVRIHTGDRPYV
CPFDGCNKKFAOSTNLKSHLTH

```

n=57

Figur 13**Erfindungsgemäß verwendete Antisense-Oligonukleotide**

(Die angegebenen Positionen beziehen sich nur auf den kodierenden Bereich und entsprechen nicht den Positionsnummern im Sequenzprotokoll.)

>gi|1835104|emb|Z85393.1|HSZ85393 H.sapiens Ig lambda light chain variable region gene(34-30SWIIE197) rearranged; Ig-Light-Lambda; VLambda
Identities = 14/14 (100%)

Query: 74 accggagcccgctg 88
|||||||
Sbjct: 241 accggagcccgctg 228
V_region 1..348

>gi|14589948|ref|NM_000937.2| Homo sapiens polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide A, 220kDa (POLR2A), mRNA
Identities = 17/18 (94%)

Query: 77 ggagcccgctgtgggaga 94
|||||||
Sbjct: 5099 ggagcccggtgtgggaga 5082
CDS 387..6299

>gi|18596386|ref|XM_093190.1| Homo sapiens similar to T-cell activation protein (LOC170226), mRNA
Identities = 20/21 (95%)

Query: 76 cggagcccgctgtgggagatg 96
|||||||
Sbjct: 156 cggagcacgctgtgggagatg 176
CDS 1..1314

>gi|7934571|gb|AF220152.2|AF220152 Homo sapiens TACC2 mRNA, complete cds
Identities = 14/14 (100%)

Query: 78 gagcccgctgtggg 91
|||||||
Sbjct: 977 gagcccgctgtggg 990
CDS 293..3013

>gi|6165844|gb|AF100772.1|AF100772 Homo sapiens tenascin-M1 (TNM1) mRNA,
Identities = 16/16 (100%)

Query: 79 agcccgctgtgggaga 94
|||||||
Sbjct: 4377 agcccgctgtgggaga 4362
CDS 65..8242
function="putative receptor molecule"

>gi|24496766|ref|NM_004712.3| Homo sapiens hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate (HGS), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 79 agcccgctgtgggag 93
|||||||
Sbjct: 2088 agcccgctgtgggag 2074

21/77

10/539535

CDS 78..2411
 /note="human growth factor-regulated tyrosine kinase
 >gi|4324953|gb|AF114821.1|HSSMO3 Homo sapiens smoothened (SMO) gene, exons 3
 through 12 and complete
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 79 agcccgctgtggga 93
 |||||
 Sbjct: 6838 agcccgctgtggga 6825
 CDS 6833..6967

>gi|22064913|ref|XM_090047.5| Homo sapiens LOC160156 (LOC160156), mRNA
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 80 gcccgctgtgggag 93
 |||||
 Sbjct: 1427 gcccgctgtgggag 1440
 CDS 709..1980

>gi|517388|emb|Z31606.1|HSB2NO3 H.sapiens brain-2/N-Oct 3 gene (promoter
 region)
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 80 gcccgctgtgggaga 94
 |||||
 Sbjct: 547 gcccgctgtgggaga 561
 promoter 1..670

>gi|23273501|gb|BC035782.1| Homo sapiens, Similar to tyrosine kinase, non-
 receptor, 1, clone
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 83 cgctgtgggagatgt 97
 |||||
 Sbjct: 1032 cgctgtgggagatgt 1046
 CDS 98..2083

>gi|7662017|ref|NM_015153.1| Homo sapiens PHD finger protein 3 (PHF3), mRNA
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 84 gctgtgggagatgt 97
 |||||
 Sbjct: 2228 gctgtgggagatgt 2241
 CDS 28..6147

>gi|20561197|ref|XM_062302.3| Homo sapiens similar to RING finger protein 18
 (Testis-specific ring-finger protein) (LOC120826), mRNA
 Score = 28.2 bits (14), Expect = 119
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 84 gctgtgggagatgt 97
 |||||
 Sbjct: 489 gctgtgggagatgt 502
 CDS 190..2244

/product="similar to RING finger protein 18 (Testis-specific ring-finger rotein)"
 >gi|4885330|ref|NM_005305.1| Homo sapiens G protein-coupled receptor 42
 (GPR42), mRNA
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 84 gctgtgggagatgt 97
 |||||
 Sbjct: 486 gctgtgggagatgt 473
 CDS 1..1041

>gi|17473297|ref|XM_061928.1| Homo sapiens LOC120226 (LOC120226), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 84 gctgtgggagatgt 97
|||||||
Sbjct: 453 gctgtgggagatgt 466
CDS 1..492

>gi|21359977|ref|NM_024947.2| Homo sapiens polyhomeotic like 3 (Drosophila)
(PHC3), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 85 ctgtgggagatgta 97
|||||||
Sbjct: 404 ctgtgggagatgta 391
CDS 65..2959
/note="early development regulator 3; polyhomeotic 3"

>gi|19718811|gb|BC007249.2| Homo sapiens, pelota homolog (Drosophila), clone
Identities = 13/13 (100%)

Query: 97 taacgggtgcctgc 109
|||||||
Sbjct: 1303 taacgggtgcctgc 1291
CDS 274..1431
/product="pelota homolog (Drosophila)"

>gi|19924298|ref|NM_004958.2| Homo sapiens FK506 binding protein 12-rapamycin
associated protein 1 (FRAP1), mRNA
Identities = 13/13 (100%)

Query: 98 acgggtgcctgccg 111
|||||||
Sbjct: 5720 acgggtgcctgccg 5732
CDS 80..7729
/note="FK506 binding protein 12-rapamycin associated protein 2; rapamycin target
protein; FKBP12-rapamycin complex-associated protein 1; FKBP-rapamycin
associated"

>gi|22049727|ref|XM_040948.8| Homo sapiens dynein, cytoplasmic, heavy
polypeptide 1 (DNCH1), mRNA
Identities = 13/13 (100%)

Query: 99 acgggtgcctgccg 111
|||||||
Sbjct: 6291 acgggtgcctgccg 6303
CDS 6..6830
/product="similar to cytoplasmic dynein heavy chain"

>gi|459833|gb|L25085.1|HUMSEC61B Human Sec61-complex beta-subunit mRNA,
Identities = 14/14 (100%)

Query: 100 cggtgcctgccgag 113
|||||||
Sbjct: 220 cggtgcctgccgag 207
CDS 64..354
/function="protein translocation across the er-membrane"

>gi|21704280|ref|NM_020433.2| Homo sapiens junctophilin 2 (JPH2), mRNA
Identities = 17/18 (94%)

Query: 100 cggtgcctgccgagcctc 117

10/539535

|||||
 Sbjct: 2526 cggcgcctgcagagcctc 2509
 CDS 874..2964

mediate cross talk between cell surface and intracellular ion channels.

>gi|12804622|gb|BC001734.1|BC001734 Homo sapiens, protein translocation
 complex beta, clone MGC:1255
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 100 cggcgcctgccgag 113

|||||
 Sbjct: 233 cggcgcctgccgag 220
 CDS 77..367

>gi|22053428|ref|XM_038146.5| Homo sapiens interferon, gamma-inducible protein
 30 (IFI30), mRNA
 Identities = 16/17 (94%)

Query: 100 cggcgcctgccgagcct 116

|||||
 Sbjct: 289 cggcgcctgccgagcct 305
 CDS 74..826

/product="similar to Gamma-interferon inducible lysosomal thiol reductase
 precursor (Gamma-interferon-inducible protein IP-30)"

>gi|7657145|ref|NM_014365.1| Homo sapiens protein kinase H11 (H11), mRNA
 Identities = 13/13 (100%)

Query: 101 ggtgcctgccgag 113

|||||
 Sbjct: 763 ggtgcctgccgag 775
 CDS 524..1114

/note="contains hsp20/crystallin family domain; estradiol-induced; small stress
 protein-like protein HSP22"

>gi|21264316|ref|NM_014599.3| Homo sapiens melanoma antigen, family D, 2
 (MAGED2), mRNA
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 101 ggtgcctgccgagcctct 118

|||||
 Sbjct: 332 ggtgcctcccgagcctct 315
 CDS 97..1917

/note="hepatocellular carcinoma associated protein; breast cancer associated
 gene 1"

>gi|11967745|emb|AJ293618.1|HSA293618 Homo sapiens mRNA for hypothetical
 protein 11B6, clone XP11B6
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 101 ggtgcctgccgagcctct 118

|||||
 Sbjct: 248 ggtgcctcccgagcctct 231
 CDS 13..1833

>gi|20514781|ref|NM_139015.1| Homo sapiens SPPL3 (SPPL3), mRNA
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 104 gcctgccgagcctc 117

|||||
 Sbjct: 569 gcctgccgagcctc 582
 CDS 1..1905

/product="hypothetical protein XP_068909"

>gi|23094385|emb|AJ345030.1|HSA345030 Homo sapiens mRNA for presenilin-like
 protein 4 (PSL4 gene)

Identities = 14/14 (100%)

Query: 104 gcctgccgagcctc 117

|||||

Sbjct: 598 gcctgccgagcctc 611

CDS 54..1208

/function="putative intramembrane protease"

>gi|4502840|ref|NM_003654.1| Homo sapiens carbohydrate (keratan sulfate Gal-6) sulfotransferase 1 (CHST1), mRNA

Identities = 16/17 (94%)

Query: 105 cctgccgagcctctacg 121

|||||

Sbjct: 735 cctgccgagcctctacg 751

CDS 367..1602

/note="carbohydrate (chondroitin 6/keratan) sulfotransferase 1"

/protein_id="NP_003645.1"

>gi|17485022|ref|XM_066361.1| Homo sapiens similar to glutathione S-transferase theta 1 (LOC129041), mRNA

Identities = 13/13 (100%)

Query: 105 cctgccgagcctc 117

|||||

Sbjct: 580 cctgccgagcctc 568

CDS 1..633

/product="similar to glutathione S-transferase theta 1"

>gi|22134527|gb|AF331523.1| Homo sapiens chromosome 12 putative anion transporter mRNA, partial

Identities = 13/13 (100%)

Query: 106 ctgccgagcctct 118

|||||

Sbjct: 807 ctgccgagcctct 819

CDS <312..2003

note="member of the SLC26 family;

>gi|14784297|ref|XM_031102.1| Homo sapiens Breakpoint cluster region protein, uterine leiomyoma, 2 (BCRP2), mRNA

Identities = 13/13 (100%)

Query: 108 gccgagcctctac 120

|||||

Sbjct: 1784 gccgagcctctac 1796

CDS 55..2883

/product="similar to KIAA1824 protein"

>gi|20535791|ref|XM_119632.1| Homo sapiens LOC205318 (LOC205318), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 123 tcggtctagcacc 136

|||||

Sbjct: 491 tcggtctagcacc 504

CDS 1..522

/product="hypothetical protein XP_119632"

>gi|4557448|ref|NM_001271.1| Homo sapiens chromodomain helicase DNA binding protein 2 (CHD2), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 125 ggctctagcacctt 138

|||||||

Sbjct: 2791 ggctctagcacctt 2778

CDS 708..5927

/product="chromodomain helicase DNA binding protein 2"

>gi|21264574|ref|NM_139135.1| Homo sapiens SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily f, member 1 (SMARCF1), transcript variant 2, mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 128 tctagcaccttgac 141

|||||||

Sbjct: 5474 tctagcaccttgac 5487

CDS 371..6577

/note="brain protein 120; chromosome 1 open reading frame 4; SWI/SNF complex protein p270; BRG1-associated factor 250a; chromatin remodeling factor p250; OSA1 nuclear protein"

>gi|18129612|gb|AF333072.2|AF333072 Homo sapiens HERV-K18.1 5' long terminal repeat, complete sequence; gag protein (gag) gene, gag-K18.1 allele, complete cds; pol protein (pol) gene, pol-K18.1 allele, complete cds; env protein (env) gene, env-K18.1 allele, complete cds; and 3' long terminal repeat, complete sequence

Identities = 17/18 (94%)

Query: 143 tactctaactccacctct 160

|||||||

Sbjct: 1196 tactctaactccccctct 1179

CDS 1113..1874

>gi|4503778|ref|NM_002029.1| Homo sapiens formyl peptide receptor 1 (FPR1),
Identities = 14/14 (100%)

Query: 148 taactccacctctg 161

|||||||

Sbjct: 1102 taactccacctctg 1089

CDS 62..1114

/product="Formyl peptide receptor 1"

/product="protein tyrosine kinase-7"

>gi|21655145|gb|AY082886.1| Homo sapiens eukaryotic translation initiation factor 4GI (EIF4GI)

Identities = 14/14 (100%)

Query: 150 actccacctctggt 163

|||||||

Sbjct: 1400 actccacctctggt 1387

CDS 275..5077

>gi|13357213|ref|NM_015545.1| Homo sapiens KIAA0632 protein (KIAA0632), mRNA
Identities = 17/18 (94%)

Query: 152 tccacctctggttagggcc 169

|||||||

Sbjct: 931 tccacctctggttagggcc 914

CDS 282..1790

/product="KIAA0632 protein"

>gi|18182862|gb|BC015632.1| Homo sapiens, similar to hypothetical protein XP_166541, clone

Identities = 18/19 (94%)

Query: 153 ccacctctggtagggccac 171
 ||||| |||||
 Sbjct: 2098 ccacctcgggtagggccac 2080
 CDS 52..2517

>gi|24432033|ref|NM_004959.3| Homo sapiens nuclear receptor subfamily 5, group A, member 1 (NR5A1),
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 159 ctggtagggccacacctg 176
 |||| |||||
 Sbjct: 2316 ctgggagggccacacctg 2299
 CDS 52..13776

>gi|17432414|gb|AF447167.1|F447157S05 Homo sapiens protein tyrosine kinase-7 (PTK7) gene, exons 11, 12, and 13
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 161 ggtagggccacacct 175
 |||||
 Sbjct: 553 ggtagggccacacct 567
 CDS AF447164.1: 548..683

>gi|19882212|ref|NM_032119.1| Homo sapiens very large G protein-coupled receptor 1 (VLGR1), mRNA
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 170 acctctgatagctctggt 187
 |||||
 Sbjct: 11300 acctctgataactctggt 11283
 CDS 97..19020

>gi|22044294|ref|XM_174449.1| Homo sapiens LOC255281 (LOC255281), mRNA
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 180 cctctgatagctctgg 196
 |||||
 Sbjct: 460 cctctgatagctctgg 445
 CDS 1..474

>gi|1841544|gb|U89337.1|HSMHC3W36A Homo sapiens HLA class III region containing NG7, cAMP response element binding protein-related protein (CREB-RP), and tenascin X genes,
 Identities = 17/18 (94%)

Query: 180 gctctggtgccaccacc 197
 |||||
 Sbjct: 54778 gctctggtgcctccacc 54795
 CDS 54566..54883

>gi|6164703|gb|AF167572.1|AF167572 Homo sapiens protein methyltransferase (JBP1) mRNA, complete cds
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 181 ctctggtgccacca 194
 |||||
 Sbjct: 574 ctctggtgccacca 561
 CDS 92..2005
 /function="methylates histones H2A and H4 and myelin basic

10/539535

/product="protein methyltransferase"

gi|2323409|gb|AF015913.1|AF015913 Homo sapiens SKB1Hs mRNA, complete cds
Identities = 14/14 (100%)

Query: 181 ctctggtgccacca 194
|||||||
Sbjct: 483 ctctggtgccacca 470
CDS 1..1914
/note="homolog of fission yeast Skb1"

>gi|18490998|ref|NM_003882.2| Homo sapiens WNT1 inducible signaling pathway
protein 1 (WISP1), transcript variant 1, mRNA
Identities = 18/19 (94%)

Query: 181 ctctggtgccaccaccgc 199
|||||||
Sbjct: 569 ctctggtgccaccaccgc 587
CDS 77..1180

>gi|14245731|dbj|AB051853.1| Homo sapiens ARHGAP9 gene for rho-GTPase
activating protein, complete
Identities = 15/15 (100%)

Query: 181 ctctggtgccaccac 195
|||||||
Sbjct: 2013 ctctggtgccaccac 2027
CDS 140..2335
/function="regulating adhesion of hematopoietic cells to
extracellular matrix"

>gi|16876446|ref|NM_054028.1| Homo sapiens acyl-malonyl condensing enzyme
(AMAC), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 181 ctctggtgccacca 194
|||||||
Sbjct: 220 ctctggtgccacca 233
CDS 122..1138

>gi|18594399|ref|XM_092954.1| Homo sapiens similar to acidic protein rich in
leucines (LOC164697), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 182 tctggtgccaccac 195
|||||||
Sbjct: 721 tctggtgccaccac 734
CDS 1..2454
/product="similar to acidic protein rich in leucines"

>gi|20553841|ref|XM_031689.6| Homo sapiens MAX dimerization protein 5 (MGA),
mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 182 tctggtgccaccac 195
|||||||
Sbjct: 463 tctggtgccaccac 476
CDS 82..4773
/product="similar to MAX-interacting protein"

>gi|18575418|ref|XM_100074.1| Homo sapiens LOC159480 (LOC159480), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 183 ctggtgccaccacc 196

|||||

Sbjct: 475 ctggtgccaccacc 488

CDS 1..1425

/product="hypothetical protein XP_100074"

>gi|6912511|ref|NM_012330.1| Homo sapiens monocytic leukemia zinc finger protein-related factor (MORF), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 183 ctggtgccaccacc 196

|||||

Sbjct: 1535 ctggtgccaccacc 1548

CDS 316..6537

/note="alternatively spliced; histone acetyltransferase"

/product="monocytic leukemia zinc finger protein-related factor"

>gi|18032211|gb|AF217500.1|AF217500 Homo sapiens histone acetyltransferase MOZ2 (MOZ2) mRNA, complete cds

Identities = 14/14 (100%)

Query: 183 ctggtgccaccacc 196

|||||

Sbjct: 1708 ctggtgccaccacc 1721

CDS 489..6707

/note="MYST family member; similar to MOZ"

/product="histone acetyltransferase MOZ2"

>gi|24497588|ref|NM_139058.1| Homo sapiens aristaless related homeobox (ARX), mRNA

Identities = 15/15 (100%)

Query: 185 ggtgccaccaccgc 199

|||||

Sbjct: 663 ggtgccaccaccgc 649

CDS 1..1689

>gi|4758787|ref|NM_004551.1| Homo sapiens NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S protein 3, 30kDa (NADH-coenzyme Q reductase) (NDUFS3), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 187 tgccaccaccgc 200

|||||

Sbjct: 675 tgccaccaccgc 662

CDS 13..807

>product="bA171A24.1 (RAR-related orphan receptor B)" gene="RORB"/

Identities = 27/29 (93%)

Query: 189 ccaccaccgctcctcctcctgctgctgc 217

|||||

Sbjct: 140523 ccaccaccaactcctcctcctgctgctgc 140551

CDS: 140352..>140970

>gi|23510326|ref|NM_015692.1| Homo sapiens alpha-2 macroglobulin family protein VIP (VIP), mRNA

Identities = 21/22 (95%)

Query:195 cccgctcctcctcctgctgctg 216

|||||
Sbjct: 47 cccgctcctgctcctgctgctg 68
CDS 18..5675
/note="contains Kazal-type serine protease inhibitor domain"

>gi|21536391|ref|NM_007037.2| Homo sapiens a disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin type) with thrombospondin type 1 motif, 8 (ADAMTS8),
Identities = 29/32 (90%)

Query: 196 ccgctcctcctcctgctgctgcttctgctgct 227
|||||
Sbjct: 741 ccgctcctgctgctgctgctgctgctgctgct 772
CDS 708..3380

>gi|7382453|ref|NM_005199.3| Homo sapiens cholinergic receptor, nicotinic, gamma polypeptide (CHRNA7), mRNA
Identities = 22/23 (95%)

Query:196 ccgctcctcctcctgctgctgct 218
|||||
Sbjct: 19 ccgctgctcctcctgctgctgct 41
CDS 1..1563

>gi|17738306|ref|NM_006650.2| Homo sapiens complexin 2 (CPLX2), mRNA
Identities = 18/18 (100%)

Query: 197 cgctcctcctcctgctgc 214
|||||
Sbjct: 488 cgctcctcctcctgctgc 471
CDS 346..750

>gi|21362089|ref|NM_032667.2| Homo sapiens Bernardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2 (seipin) (BSCL2), mRNA
Identities = 24/26 (92%)

Query: 198 gctcctcctcctgctgctgcttctgc 224
|||||
Sbjct: 1797 gctcctgctcctgcttctgcttctgc 1822
CDS 507..1901

>gi|21703365|ref|NM_022766.3| Homo sapiens ceramide kinase (CERK), mRNA
Identities = 21/22 (95%)

Query: 198 gctcctcctcctgctgctgctt 219
|||||
Sbjct: 1216 gctcctcctccagctgctgctt 1195

Identities = 14/14 (100%)

Query: 204 cctcctgctgctgc 217
|||||
Sbjct: 1586 cctcctgctgctgc 1599
CDS 124..1737
/note="lipid kinase LK4"

>gi|10198655|ref|NM_020547.1| Homo sapiens anti-Mullerian hormone receptor, type II (AMHR2), mRNA
Identities = 20/20 (100%)

Query: 199 ctctcctcctgctgctgct 218
|||||

10/539535

Sbjct: 544 ctctctctctctgctgctgct 563
CDS 79..1800

>gi|7662013|ref|NM_014745.1| Homo sapiens KIAA0233 gene product (KIAA0233), mRNA
Identities = 30/32 (93%)

Query: 199 ctctctctctctgctgctgcttctgctgctcct 230
|||||
Sbjct: 803 ctctctctctctgctgctgctgatgctcct 772
CDS 3..6110

>gi|4504382|ref|NM_001528.1| Homo sapiens HGF activator (HGFAC), mRNA
Identities = 27/28 (96%)

Query: 199 ctctctctctctgctgctgcttctgctgc 226
|||||
Sbjct: 64 ctctctctctctgctgctgctgctgctgc 91
CDS 4..1971

>gi|23111046|ref|NM_152227.1| Homo sapiens sorting nexin 5 (SNX5), transcript variant 1, mRNA
Identities = 18/18 (100%)

Query: 200 tcctctctctgctgctgc 217
|||||
Sbjct: 221 tcctctctctgctgctgc 204
CDS 181..1395

>gi|22507392|ref|NM_022574.2| Homo sapiens PERQ amino acid rich, with GYP domain 1 (PERQ1), mRNA
Identities = 28/31 (90%)

Query: 200 tcctctctctgctgctgcttctgctgctcct 230
|||||
Sbjct: 1856 tcctctctctgctgctgcttctgctcct 1826
CDS 236..2689

>gi|10834965|ref|NM_000404.1| Homo sapiens galactosidase, beta 1 (GLB1), transcript variant 179423, mRNA
Identities = 26/28 (92%)

Query: 200 tcctctctctgctgctgcttctgctgct 227
|||||
Sbjct: 83 tcctcttctgctgctggttctgctgct 110
sig_peptide 61..129
CDS 61..2094

>gi|1814019|gb|U84408.1|HSU84408 Human IL-1 receptor related protein MyD88 mRNA, complete cds
Identities = 20/20 (100%)

Query: 201 cctcctctctgctgctgcttc 220
|||||
Sbjct: 433 cctcctctctgctgctgcttc 414
CDS 61..951

>gi|15929589|gb|BC015219.1|BC015219 Homo sapiens, HBV associated factor, clone
Identities = 25/27 (92%)

Query: 201 cctcctctctgctgctgcttctgctgct 227

||||| ||||||||| |||||
Sbjct: 1211 cctcctgctgctgctgcttccgctgct 1185
CDS 434..1966

>gi|4885332|ref|NM_005306.1| Homo sapiens G protein-coupled receptor 43
(GPR43), mRNA
Identities = 22/23 (95%)

Query: 201 cctcctcctgctgctgcttctgc 223
||||| ||||||||| |||||
Sbjct: 165 cctcctcctgctgctgctgctgc 187
CDS 1..993
/note="7tm_1; Region: 7 transmembrane receptor (rhodopsin
family)"

>gi|19111149|ref|NM_133265.1| Homo sapiens angiotensin (AMOT), mRNA
Identities = 24/26 (92%)

Query: 202 ctccctcctgctgctgcttctgctgct 227
||||| ||||||||| |||||||
Sbjct: 2448 ctccctcctgctgctgctgctgctgct 2473
CDS 797..2824

>gi|24308357|ref|NM_033253.1| Homo sapiens 5'-nucleotidase, cytosolic IB
(NT5C1B), mRNA
Identities = 24/26 (92%)

Query: 203 tctcctcctgctgctgcttctgctgctc 228
||||| ||||||||| |||||||
Sbjct: 678 tctcctcctgctgctgctgctgctgctc 653
CDS 482..1690
/note="5' nucleotidase; autoimmune infertility-related protein; 5'-nucleotidase,
cytosolic IB; cytosolic 5'-nucleotidase IB; 5'-nucleotidase, cytosolic IB"

>gi|11545760|ref|NM_022055.1| Homo sapiens potassium channel, subfamily K,
member 12 (KCNK12),
Identities = 22/23 (95%)

Query: 204 cctcctgctgctgcttctgctgc 226
||||| ||||||||| |||||||
Sbjct: 59 cctcctgctgctgctgctgctgctgc 81
CDS 1..1293
/note="tandem pore domain potassium channel THIK-2"

>gi|5729946|ref|NM_006681.1| Homo sapiens neuromedin U (NMU), mRNA
Identities = 23/24 (95%)

Query: 205 ctccctgctgctgcttctgctgctc 228
||||| ||||||||| |||||||
Sbjct: 169 ctccctgctgctgctgctgctgctc 192
CDS 106..630
sig_peptide 106..207

>gi|4128016|emb|AJ011701.1|HSA011701 Homo sapiens TRHR gene promoter and exons
1-2, partial
Identities = 20/20 (100%)

Query: 205 ctccctgctgctgcttctgct 224
||||| ||||||||| |||||||
Sbjct: 1732 ctccctgctgctgcttctgct 1751
exon 1691..1946

10/539535

>gi|17985370|gb|AF284094.1|AF284094 Homo sapiens I3 binding protein (BRI3BP)
mRNA, complete cds
Identities = 22/23 (95%)

Query: 205 ctctgtgctgctgcttctgtgct 227
|||||
Sbjct: 130 ctctgtgctgctgctgctgct 152
CDS 88..843

>gi|15625294|gb|AF286190.1|AF286190 Homo sapiens VPS10 domain protein mRNA,
Identities = 22/23 (95%)

Query: 205 ctctgtgctgctgcttctgtgct 227
|||||
Sbjct: 5 ctctgtgctgctgctgctgct 27
CDS <1..>1251

>gi|28761|emb|X13629.1|HSAPOA4 Human intestinal mRNA for apolipoprotein A-IV
Identities = 22/23 (95%)

Query: 205 ctctgtgctgctgcttctgtgct 228
|||||
Sbjct: 1203 ctctgtgctgctcctgtgct 1181
CDS 46..1236

>gi|17458351|ref|XM_047011.2| Homo sapiens protein O-fucosyltransferase 1
(POFUT1), mRNA
Identities = 23/24 (95%)

Query: 206 tctgtgctgctgcttctgtgctcc 229
|||||
Sbjct: 90 tctgtgctgctgcttctgccgctcc 113
CDS 50..1216

>gi|15812213|ref|NM_033431.1| Homo sapiens phosphodiesterase 5A, cGMP-specific
(PDE5A), transcript variant 4, mRNA
Identities = 20/20 (100%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgtgct 227
|||||
Sbjct: 227 ctgctgctgcttctgtgct 208
CDS 156..2753

>gi|3252778|dbj|D89094.1| Homo sapiens mRNA for 3',5'-cyclic GMP
phosphodiesterase, complete
Identities = 20/20 (100%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgtgct 227
|||||
Sbjct: 391 ctgctgctgcttctgtgct 372
CDS 320..2947

>gi|11496985|ref|NM_012072.2| Homo sapiens complement component 1, q
subcomponent, receptor 1 (C1QR1), mRNA
Identities = 22/23 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgtgctcct 230
|||||
Sbjct: 170 ctgctgctgctgctgctcct 192
CDS 149..2107

10/539535

>gi|4809281|ref|NM_001718.2| Homo sapiens bone morphogenetic protein 6 (BMP6),
Identities = 22/23 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcct 230
|||||||
Sbjct: 533 ctgctgctgctgctgctgctcct 511
CDS 180..1721
/note="Vg-related sequence; transforming growth factor-beta"

>gi|14777259|ref|XM_027568.1| Homo sapiens similar to interleukin 9 receptor
(LOC146316), mRNA
Identities = 22/23 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcct 230
|||||||
Sbjct: 1294 ctgctgctgctgctgctgctcct 1272
CDS 660..1547

>gi|2626738|dbj|AB005060.1| Homo sapiens mRNA for NTAK, complete cds
Identities = 22/23 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcct 230
|||||||
Sbjct: 341 ctgctgctgctgctgctgctcct 319
CDS 226..2778

>gi|4507106|ref|NM_003086.1| Homo sapiens small nuclear RNA activating
complex, polypeptide 4,90kDa (SNAPC4), mRNA
Identities = 21/22 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcc 229
|||||||
Sbjct: 1994 ctgctgctgctgctgctgctcc 1973
Identities = 27/29 (93%), Gaps = 1/29 (3%)

Query: 200 tcctcctc-ctgctgctgcttctgctgct 227
|||||||
Sbjct: 2009 tcctcctcgtgctgctgctgctgctgct 1981
CDS 376..4785

>gi|21237798|ref|NM_139205.1| Homo sapiens histone deacetylase 5 (HDAC5),
transcript variant 2,
Identities = 21/22 (95%)

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcc 229
|||||||
Sbjct: 1888 ctgctgctgcttctgcttctcc 1867
Identities = 15/15 (100%)

Query: 205 ctctgctgctgctt 219
|||||||
Sbjct: 670 ctctgctgctgctt 656
CDS 305..3418
/note="isoform 2 is encoded by transcript variant 2; antigen NY-CO-9"

>gi|2564750|gb|AF029308.1|HTCRBCHR9 Homo sapiens chromosome 9 duplication of
the T cell receptor beta locus and trypsinogen gene families
Identities = 19/19 (100%)

Query: 209 tgctgctgcttctgctgct 227
 |||||
 Sbjct: 11391 tgctgctgcttctgctgct 11409
 V_segment join(11390..11420)

>gi|1296750|emb|Z49234.1|HSTCRB2X2 H.sapiens gene for T-cell receptor TCRBV2.2
 Identities = 19/19 (100%)

Query: 209 tgctgctgcttctgctgct 227
 |||||
 Sbjct: 976 tgctgctgcttctgctgct 994
 CDS 975..1141

>gi|13027808|ref|NM_022718.1| Homo sapiens matrix metalloproteinase 25
 (MMP25), transcript variant 2, mRNA
 Identities = 18/18 (100%)

Query: 210 gctgctgcttctgctgct 227
 |||||
 Sbjct: 264 gctgctgcttctgctgct 281
 CDS 238..1926

>gi|12803104|gb|BC002356.1|BC002356 Homo sapiens, nucleobindin 1, clone
 Identities = 21/22 (95%)

Query: 213 gctgcttctgctgctcct 230
 |||||
 Sbjct: 68 gctgctgctgctgctcct 85

Query: 208 ctgctgctgcttctgctgctcc 229
 |||||
 Sbjct: 1235 ctgctgctgcttccgctgctcc 1214
 CDS 27..1412

>gi|24496766|ref|NM_004712.3| Homo sapiens hepatocyte growth factor-regulated
 tyrosine kinase substrate (HGS), mRNA
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 215 tgcttctgctgctcc 229
 |||||
 Sbjct: 1732 tgcttctgctgctcc 1718
 CDS 78..2411

>gi|20544115|ref|XM_059933.5| Homo sapiens similar to putative
 lysophosphatidic acid acyltransferase (LOC137964), mRNA
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 216 gcttctgctgctcct 230
 |||||
 Sbjct: 2233 gcttctgctgctcct 2219
 CDS 913..2283

>gi|22770666|gb|AF531299.1| Homo sapiens histone H1 (HIST1H1A) gene, complete
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 216 gcttctgctgctcct 230
 |||||
 Sbjct: 551 gcttctgctgctcct 565
 CDS 521..1168

10/539535

>gi|18390058|gb|AF463518.1| Homo sapiens cell recognition protein CASPR4
(CASPR4) mRNA, complete
Identities = 15/15 (100%)

Query: 216 gcttctgctgctcct 230
 |||||
Sbjct: 1568 gcttctgctgctcct 1582
 CDS 140..4075
/product="cell recognition protein CASPR4"

>gi|21359973|ref|NM_053276.2| Homo sapiens vitrin (VIT), mRNA
Identities = 19/20 (95%)

Query: 216 cttctgctgctcctaccacc 236
 |||||
Sbjct: 835 cttctgctgctcctaccacc 854
 CDS 222..2303

>gi|23308602|ref|NM_015460.1| Homo sapiens myosin VIIA and Rab interacting
protein (MYRIP), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 220 ctgctgctcctacca 234
 |||||
Sbjct: 409 ctgctgctcctacca 423
 CDS 137..2716
/product="myosin VIIA and Rab interacting protein"

>gi|15559110|gb|AF414087.1| Homo sapiens small breast epithelial mucin mRNA,
complete cds
Identities = 16/16 (100%)

Query: 220 ctgctgctcctaccac 235
 |||||
Sbjct: 210 ctgctgctcctaccac 225
 CDS 47..319
note="SBEM; secreted protein; similar to Mus musculus"

>gi|22779205|dbj|AB083783.1| Homo sapiens slac2-c mRNA for Slp homologue
lacking C2 domains-c, complete cds
Identities = 15/15 (100%)

Query: 220 ctgctgctcctacca 234
 |||||
Sbjct: 273 ctgctgctcctacca 287
 CDS 1..2580

>gi|7705267|ref|NM_016255.1| Homo sapiens family with sequence similarity 8,
member A1 (FAM8A1),
Identities = 15/15 (100%)

Query: 226 ctctaccaccgccg 240
 |||||
Sbjct: 147 ctctaccaccgccg 161
 CDS 56..1297
/product="Autosomal Highly Conserved Protein"

>gi|14210509|ref|NM_032496.1| Homo sapiens rho-gtpase activating protein
ARHGAP9 (ARHGAP9), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 240 gcctctggtgccacc 254
|||||
Sbjct: 2335 gcctctggtgccacc 2349
CDS 407..2659
/product="hypothetical protein MGC12959"

>gi|184756|gb|J00221.1|HUMIGCD7 Human Ig germline H-chain G-E-A region B:
alpha-2 A2m(1) allele constant region, 3' end
Identities = 15/15 (100%)

Query: 240 gcctctggtgccacc 254
|||||
Sbjct: 800 gcctctggtgccacc 814
CDS join(<164..469,684..1004,1227..1621)
/product="immunoglobulin alpha-2 heavy chain"

>gi|21361375|ref|NM_007165.2| Homo sapiens splicing factor 3a, subunit 2,
66kDa (SF3A2), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 248 tgccaccgcccccgcc 263
|||||
Sbjct: 876 tgccaccgcccccgcc 891
CDS 125..1519
/note="Spliceosome protein SAP-62; splicing factor 3a,
subunit 2, 66kD"

>gi|21361291|ref|NM_005611.2| Homo sapiens retinoblastoma-like 2 (p130)
(RBL2), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 249 gccaccgcccccgcc 263
|||||
Sbjct: 93 gccaccgcccccgcc 107
CDS 70..3489

>gi|4505322|ref|NM_003941.1| Homo sapiens Wiskott-Aldrich syndrome-like
(WASL), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 249 gccaccgcccccgcc 263
|||||
Sbjct: 1406 gccaccgcccccgcc 1420
CDS 255..1772

>gi|5901937|ref|NM_007021.1| Homo sapiens decidual protein induced by
progesterone (DEPP), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 249 gccaccgcccccgcc 263
|||||
Sbjct: 787 gccaccgcccccgcc 801
CDS 219..857

>gi|22045278|ref|XM_001334.5| Homo sapiens POU domain, class 3, transcription
factor 1 (FOU3F1),
Identities = 16/16 (100%)

Query: 250 ccaccgcccccgccgg 265
|||||
Sbjct: 1326 ccaccgcccccgccgg 1341

CDS 36..1391
 /product="similar to Octamer-binding transcription factor 6 (OCT-6) (POU-domain transcription factor SCIP) (TST-1)"

>gi|24234749|ref|NM_012218.2| Homo sapiens interleukin enhancer binding factor 3, 90kDa (ILF3), transcript variant 1, mRNA
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 250 ccaccgcccccgccg 264

|||||

Sbjct: 2389 ccaccgcccccgccg 2375

CDS 267..2951

/note="isoform a is encoded by transcript variant 1; double-stranded RNA-binding protein, 76 kD; M-phase phosphoprotein 4; nuclear factor associated with dsRNA; nuclear factor of activated T-cells, 90 kD; translational control protein 80"

>gi|190749|gb|M96684.1|HUMPURA H.sapiens Pur (pur-alpha) mRNA, complete cds
 Identities = 16/16 (100%)

Query: 250 ccaccgcccccgccg 265

|||||

Sbjct: 163 ccaccgcccccgccg 148

CDS 60..1028

/function="sequence-specific single-stranded DNA binding protein"

>gi|4885128|ref|NM_005194.1| Homo sapiens CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta (CEBFB),
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 250 ccaccgcccccgccg 264

|||||

Sbjct: 484 ccaccgcccccgccg 498

CDS 1..1038

>gi|24850134|ref|NM_170695.1| Homo sapiens TGFB-induced factor (TALE family homeobox) (TGIF),
 Identities = 18/19 (94%)

Query: 253 ccgcccccgccggtgcccg 271

|||||

Sbjct: 374 ccgcccccgccggtgcccg 356

CDS 304..1509

>gi|20805946|gb|AY083269.1| Homo sapiens transcription factor mammalian MafA gene, complete cds
 Identities = 18/19 (94%)

Query: 253 ccgcccccgccggtgcccg 271

|||||

Sbjct: 236 ccgcccccgccggtgcccg 218

CDS 1..1059

>gi|5058992|gb|U66095.1|U66095 Homo sapiens cell-line THP-1 GTP cyclohydrolase I mRNA, complete
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 257 ccccgccggtgcccg 271

|||||

Sbjct: 177 ccccgccggtgcccg 163

CDS 145..846

>gi|4507750|ref|NM_001071.1| Homo sapiens thymidylate synthetase (TYMS), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 261 gccggtgcccgtgcg 275
|||||
Sbjct: 267 gccggtgcccgtgcg 253
CDS 106..1047

>gi|17511946|gb|BC018929.1|BC018929 Homo sapiens, Similar to T-cell death
associated gene, clone
Identities = 15/15 (100%)

Query: 261 gccggtgcccgtgcg 275
|||||
Sbjct: 1029 gccggtgcccgtgcg 1015
CDS 279..1058

>gi|6679302|ref|NM_007350.1| Homo sapiens pleckstrin homology-like domain,
family A, member 1(PHLDA1), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 261 gccggtgcccgtgcg 275
|||||
Sbjct: 1333 gccggtgcccgtgcg 1319
CDS 160..1362

>gi|23097243|ref|NM_152891.1| Homo sapiens serine protease EOS (EOS), mRNA
Identities = 19/20 (95%)

Query: 263 cgggtgcccgtgcgaccggtg 282
|||||
Sbjct: 385 cgggtgcccgtgcgacgggtg 404
CDS 69..923

>gi|20555609|ref|XM_165720.1| Homo sapiens HCR (a-helix coiled-coil rod
homologue) (HCR), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 275 gaccggtggtggttag 289
|||||
Sbjct: 1573 gaccggtggtggttag 1559
CDS 80..2428

>gi|10947055|ref|NM_020987.1| Homo sapiens ankyrin 3, node of Ranvier (ankyrin
G) (ANK3), transcript variant 1, mRNA
Identities = 21/21 (100%)

Query: 280 gtggtggttagtggtggtggtg 300
|||||
Sbjct: 12113 gtggtggttagtggtggtggtg 12093

Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtggtg 300
|||||
Sbjct: 12096 ggtggtggcagtggtggtggtg 12075

Identities = 18/18 (100%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggt 296

10/539535

|||||
Sbjct: 12123 ggtggtgtagtggtggt 12106

Identities = 20/22 (90%)

Query: 279 ggtggtgtagtggtggtggtg 300
||||| || |||||
Sbjct: 12111 ggtggtgtagtggtggtggtg 12090
Identities = 19/21 (90%)

Query: 279 ggtggtgtagtggtggtggt 299
||||| || |||||
Sbjct: 12126 ggtggtgtagtggtggtggt 12106
Identities = 13/13 (100%)

Query: 279 ggtggtgtagtg 291
|||||
Sbjct: 12081 ggtggtgtagtg 12069
CDS 193..13326

>gi|7662227|ref|NM_014841.1| Homo sapiens synaptosomal-associated protein,
91kDa homolog (mouse) (SNAP91), mRNA
Identities = 20/20 (100%)

Query: 279 ggtggtgtagtggtggtgg 298
|||||
Sbjct: 1890 ggtggtgtagtggtggtgg 1871
CDS 244..2967

Identities = 14/14 (100%)

Query: 279 ggtggtgtagtggtggtgg 292
|||||
Sbjct: 717 ggtggtgtagtggtggtgg 704
Identities = 19/21 (90%)

Query: 279 ggtggtgtagtggtggtggt 299
||||| || |||||
Sbjct: 729 ggtggtgtagtggtggtggt 709
CDS 320..1168

>gi|5453935|ref|NM_006236.1| Homo sapiens POU domain, class 3, transcription
factor 3 (POU3F3), mRNA
Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtggtgtagtggtggtggtg 300
||||| || |||||
Sbjct: 829 ggtggtgtagtggtggtggtg 808
CDS 1..1503

>gi|21396478|ref|NM_005924.2| Homo sapiens mesenchyme homeo box 2 (growth
arrest-specific homeo box) (MEOX2), mRNA
Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtggtg 300
||||||| |||||||
Sbjct: 404 ggtggtggtggtggtggtggtg 383

Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtggtg 300
||||||| |||||||
Sbjct: 407 ggtggtggtggtggtggtggtg 386

Identities = 20/22 (90%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtggtg 300
||||||| |||||||
Sbjct: 416 ggtggtgatggtggtggtggtg 395
CDS 182..1093

>gi|21361336|ref|NM_001969.2| Homo sapiens eukaryotic translation initiation factor 5 (EIF5), mRNA

Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtggtg 300
||||||| |||||||
Sbjct: 1022 ggtggtggtggtggtggtggtg 1001

Identities = 19/20 (95%)

Query: 281 tggtagtggtggtggtggtg 300
||||||| |||||||
Sbjct: 1023 tggtagtggtggtggtggtg 1004
CDS 469..1764

>gi|12597624|ref|NM_012068.2| Homo sapiens activating transcription factor 5 (ATF5), mRNA
Identities = 20/20 (100%)

Query: 281 tggtagtggtggtggtggtg 300
||||||| |||||||
Sbjct: 730 tggtagtggtggtggtggtg 711

>gi|20127494|ref|NM_006237.2| Homo sapiens POU domain, class 4, transcription factor 1 (POU4F1),
Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtggtg 300
||||||| |||||||
Sbjct: 553 ggtggtggtggtggtggtggtg 532

Identities = 21/22 (95%)

Query: 279 ggtggtggttagtggtggtggtg 300
||||||| |||||||
Sbjct: 556 ggtggtggtggtggtggtggtg 535

Identities = 19/20 (95%)

10/539535

Query: 281 tggtaggtggtggtggtg 300

|||||

Sbjct: 560 tggtaggtggtggtggtg 541

CDS 235..1497

>gi|20379115|gb|AF498971.1| Homo sapiens small GTP binding protein RhoB (ARHB) mRNA, complete

Identities = 15/15 (100%)

Query:299 tggtaggtggtgggcg 313

|||||

Sbjct: 23 tggtaggtggtgggcg 37

CDS 1..591

>gi|190939|gb|M38453.1|HUMRASTG Human ras transforming protein gene, exon 1

Identities = 15/15 (100%)

Query: 299 tggtaggtggtgggcg 313

|||||

Sbjct: 149 tggtaggtggtgggcg 163

exon 133..243

>gi|20544140|ref|NM_003185.2| Homo sapiens TAF4 RNA polymerase II, TATA box binding protein(TBP)-associated factor, 135kDa (TAF4), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tggtaggtggtgggc 312

|||||

Sbjct: 125 tggtaggtggtgggc 112

CDS 1..3252

>gi|21361862|ref|NM_033104.2| Homo sapiens stonin 2 (STN2), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tggtaggtggtgggc 312

|||||

Sbjct: 2110 tggtaggtggtgggc 2097

CDS 202..2919

>gi|22597105|gb|AF521671.1| Homo sapiens SWI/SNF chromatin remodeling complex subunit OSA2

Identities = 14/14 (100%)

Query:299 tggtaggtggtgggc 312

|||||

Sbjct: 68 tggtaggtggtgggc 55

CDS <1..6498

>gi|22051956|ref|XM_113625.2| Homo sapiens similar to Antrax toxin receptor precursor (Tumor endothelial marker 8) (LOC195977), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tggtaggtggtgggc 312

|||||

Sbjct: 411 tggtaggtggtgggc 398

CDS 251..1171

>gi|17863992|gb|AF449430.1|AF449430 Homo sapiens endocytosis protein HSTNB variant mRNA, complete cds

Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tggtaggtggtgggc 312

```

|||||
Sbjct: 2110 tgggtggtggtgggc 2097
      CDS                202..2919
>gi|11065969|gb|AF193855.1|AF193855 Homo sapiens zinc finger protein of
cerebellum ZIC2 (ZIC2) mRNA,
Identities = 14/14 (100%)

Query: 299 tgggtggtggtgggc 312
      |||||||
Sbjct: 701 tgggtggtggtgggc 688
      CDS                1..1599

>gi|17474021|ref|XM_058523.1| Homo sapiens similar to MDM2 variant FB29
(LOC121015), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 302 tgggtggtgggcggg 315
      |||||||
Sbjct: 117 tgggtggtgggcggg 104
      CDS                26..418

>gi|21361620|ref|NM_002633.2| Homo sapiens phosphoglucomutase 1 (PGM1), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 302 tgggtggtgggcggg 315
      |||||||
Sbjct: 383 tgggtggtgggcggg 396
      CDS                214..1902

>gi|6979929|gb|AF221759.1|AF221759 Homo sapiens Mam1 mRNA, partial cds
Identities = 14/14 (100%)

Query: 303 ggtggtgggcgggt 316
      |||||||
Sbjct: 1643 ggtggtgggcgggt 1630
      CDS                <1..2682

>gi|4505736|ref|NM_002621.1| Homo sapiens properdin P factor, complement
(PFC), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 306 ggtgggcgggtact 320
      |||||||
Sbjct: 1493 ggtgggcgggtact 1480
      CDS                243..1652

>gi|20127484|ref|NM_005654.2| Homo sapiens nuclear receptor subfamily 2, group
F, member 1 (NR2F1), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 319 tagcgcgacgtggg 332
      |||||||
Sbjct: 705 tagcgcgacgtggg 692
      CDS                98..1369
/note="Transcription factor COUP 1 (chicken ovalbumin upstream promoter 1,;
transcription factor COUP 1 "

>gi|16418382|ref|NM_052876.1| Homo sapiens transcriptional repressor NAC1
(NAC1), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

```

10/539535

Query: 326 acgtggcgaccagt 340

||||||||||||

Sbjct: 404 acgtggcgaccagt 418

CDS 127..1710

/note="contains POZ domain"

>gi|16445431|ref|NM_033662.1| Homo sapiens WD repeat domain 4 (WDR4),
transcript variant 3, mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 328 gtggggcgaccagtggc 343

||||||||||||

Sbjct: 882 gtggggcgaccagtggc 897

CDS 363..1163

/note="isoform 2 is encoded by transcript variant 3; WD repeat-containing
protein 4"

>gi|22027497|ref|NM_012295.2| Homo sapiens calcineurin binding protein 1
(CABIN1), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 334 gaccagtggctgctg 348

||||||||||||

Sbjct: 1787 gaccagtggctgctg 1801

CDS 128..6790

>gi|20336259|ref|NM_015866.2| Homo sapiens PR domain containing 2, with ZNF
domain (PRDM2), transcript variant 2, mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 336 ccagtggctgctgg 349

||||||||||||

Sbjct: 3329 ccagtggctgctgg 3316

CDS 857..5905

/note="isoform b is encoded by transcript variant 2; zinc-finger DNA-binding
protein; retinoblastoma protein-interacting zinc finger protein; MTE-binding
protein"

>gi|22042322|ref|XM_015428.3| Homo sapiens similar to CGI-105 protein
(LOC151313), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 337 cagtggctgctggg 350

||||||||||||

Sbjct: 620 cagtggctgctggg 633

CDS 11..955

>gi|20270612|ref|NG_001318.1| Homo sapiens HSP40 pseudogene (HSP40)
Identities = 14/14 (100%)

Query: 337 cagtggctgctggg 350

||||||||||||

Sbjct: 2499 cagtggctgctggg 2486

misc_feature 1..2882

>gi|21265045|ref|NM_139027.1| Homo sapiens a disintegrin-like and
metalloprotease (reprolysin type) with thrombospondin type 1 motif, 13
(ADAMTS13), transcript variant 2, mRNA
Identities = 17/17 (100%)

Query: 339 gtggctgctgggctggg 355

|||||

Sbjct: 3812 gtggctgctgggctggg 3828

CDS 445..4560

(vWF)-cleaving protease, which is responsible for cleaving at the

>gi|22050832|ref|XM_114863.2| Homo sapiens similar to alpha 2 type IV collagen preproprotein; canstatin (LOC203630), mRNA

Identities = 16/16 (100%)

Query: 339 gtggctgctgggctggg 354

|||||

Sbjct: 450 gtggctgctgggctggg 465

CDS 1..1425

/product="similar to alpha 2 type IV collagen preproprotein; canstatin"

>gi|22064435|ref|XM_017037.3| Homo sapiens suppressor of Ty 6 homolog (S. cerevisiae) (SUPT6H),

Identities = 15/15 (100%)

Query: 340 tggctgctgggctggg 354

|||||

Sbjct: 4624 tggctgctgggctggg 4610

CDS 161..4972

>gi|20149786|gb|AF039196.3| Homo sapiens putative single zinc finger transcription factor protein (hairless) mRNA, complete cds

Identities = 15/15 (100%)

Query: 341 ggctgctgggctggg 355

|||||

Sbjct: 4218 ggctgctgggctggg 4204

CDS 1485..5054

/note="restricted expression in the brain and skin"

>gi|20070162|ref|NM_018896.2| Homo sapiens calcium channel, voltage-dependent, alpha 1G subunit (CACNA1G), mRNA

Identities = 15/15 (100%)

Query: 342 gctgctgggctgggt 356

|||||

Sbjct: 1440 gctgctgggctgggt 1426

CDS 1..7134

>gi|18564486|ref|XM_094865.1| Homo sapiens similar to Olfactory receptor 4F3 (LOC168119), mRNA

Identities = 15/15 (100%)

Query: 343 ctgctgggctgggtt 357

|||||

Sbjct: 49 ctgctgggctgggtt 35

CDS 1..978

>gi|4503532|ref|NM_001417.1| Homo sapiens eukaryotic translation initiation factor 4B (EIF4B),

Identities = 16/16 (100%)

Query: 350 gctgggttcacgtggt 365

|||||

Sbjct: 393 gctgggttcacgtggt 378

CDS 1..1836

10/539535

>gi|4557252|ref|NM_001109.1| Homo sapiens a disintegrin and metalloproteinase domain 8 (ADAM8),
Identities = 15/15 (100%)

Query: 360 cgtgggtggtggttct 374
|||||
Sbjct: 1980 cgtgggtggtggttct 1994
CDS 10..2484

>gi|20143921|ref|NM_133437.1| Homo sapiens titin (TTN), transcript variant novex-2, mRNA
Identities = 17/18 (94%)

Query: 360 cgtgggtggtggttctcca 377
|||||
Sbjct: 33611 cgtgatggtggttctcca 33628
CDS 224..81580
/note="isoform novex-2 is encoded by transcript variant novex-2; connectin; CMH9, included"

>gi|22726242|gb|BC037404.1| Homo sapiens, Similar to formin binding protein 4, clone MGC:36749
Identities = 14/14 (100%)

Query: 361 gtgggtggtggttct 374
|||||
Sbjct: 2743 gtgggtggtggttct 2730
CDS 28..3075

>gi|4557234|ref|NM_000018.1| Homo sapiens acyl-Coenzyme A dehydrogenase, very long chain (ACADVL), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 362 tgggtggtggttctc 375
|||||
Sbjct: 1818 tgggtggtggttctc 1831
CDS 86..2053

>gi|22048275|ref|XM_063346.3| Homo sapiens similar to polypyrimidine-tract binding protein(LOC122888), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 363 ggtgggtggttctcc 376
|||||
Sbjct: 1345 ggtgggtggttctcc 1332
CDS 1..1461

>gi|4885524|ref|NM_005490.1| Homo sapiens SH2 domain containing 3A (SH2D3A),
Identities = 15/15 (100%)

Query: 390 ctgcgcgctcctcca 414
|||||
Sbjct: 1319 ctgcgcgctcctcca 1305
CDS 152..1882

>gi|22060841|ref|XM_165659.2| Homo sapiens elac homolog 1 (E. coli) (ELAC1), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 397 ctctccatcaccac 412

10/539535

|||||
Sbjct: 894 ctctccatcacccac 879
CDS 108..1199
/product="similar to elaC homolog 1 (E. coli); similar to Escherichia coli elaC;
hypothetical protein D29; elaC

>gi|9055315|ref|NM_012406.2| Homo sapiens PR domain containing 4 (PRDM4), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 397 ctctccatcaccca 411
|||||
Sbjct: 1109 ctctccatcaccca 1123
CDS 123..2528

>gi|22046620|ref|XM_069728.3| Homo sapiens similar to beta-glucuronidase
(LOC136132), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 399 tcctccatcacccac 413
|||||
Sbjct: 663 tcctccatcacccac 649
CDS 1..972

>gi|19263734|gb|BC025358.1| Homo sapiens, ATP-binding cassette, sub-family D
(ALD), member 1,
Identities = 15/15 (100%)

Query: 400 ctccatcacccaccg 414
|||||
Sbjct: 2364 ctccatcacccaccg 2378
CDS 400..2637

>gi|11968022|ref|NM_022473.1| Homo sapiens zinc finger protein 106 (ZFP106),
mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 400 ctccatcacccaccg 414
|||||
Sbjct: 3838 ctccatcacccaccg 3852
CDS 336..5987

>gi|18586624|ref|XM_085530.1| Homo sapiens similar to Adrenoleukodystrophy
protein (ALDP)
Identities = 15/15 (100%)

Query: 400 ctccatcacccaccg 414
|||||
Sbjct: 310 ctccatcacccaccg 324
CDS 134..583
misc_feature 161..376

>gi|19743876|ref|NM_002918.2| Homo sapiens regulatory factor X, 1 (influences
HLA class II expression) (RFX1), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 406 caccaccgctgctg 420
|||||
Sbjct: 220 caccaccgctgctg 234
CDS 93..3032

>gi|19263734|gb|BC025358.1| Homo sapiens, ATP-binding cassette, sub-family D (ALD), member 1,
Identities = 15/15 (100%)

Query: 410 ctccatcacccaccg 424

|||||||

Sbjct: 2364 ctccatcacccaccg 2378

CDS 400..2637

>gi|18586624|ref|XM_085530.1| Homo sapiens similar to Adrenoleukodystrophy protein (ALDP) (LOC146640), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 410 ctccatcacccaccg 424

|||||||

Sbjct: 310 ctccatcacccaccg 324

CDS 134..583

>gi|11968022|ref|NM_022473.1| Homo sapiens zinc finger protein 106 (ZFP106), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 410 ctccatcacccaccg 424

|||||||

Sbjct: 3838 ctccatcacccaccg 3852

CDS 336..5987

>gi|13184045|ref|NM_023944.1| Homo sapiens cytochrome P450, subfamily IVF, polypeptide 12 (CYP4F12), mRNA
Identities = 17/17 (100%)

Query: 413 cgctgctgagcctgccc 429

|||||||

Sbjct: 35 cgctgctgagcctgccc 51

CDS 31..1605

>gi|23821028|ref|NM_153486.1| Homo sapiens lactate dehydrogenase D (LDHD), mRNA
Identities = 20/22 (90%)

Query: 424 ctgcccgcgcgcggctcctgc 445

|||||||

Sbjct: 637 ctgcccgcgcgcggctgctgc 658

CDS 58..1518

>gi|24528580|gb|AF079529.2| Homo sapiens cAMP-specific phosphodiesterase 8B1 (PDE8B) mRNA, complete cds; alternatively spliced
Identities = 15/15 (100%)

Query: 427 cccgacgcgcggctc 441

|||||||

Sbjct: 224 cccgacgcgcggctc 210

CDS 46..2703

>gi|22001416|ref|NM_015465.1| Homo sapiens gemin 5 (GEMIN5), mRNA
SMN complex component; Sm-interacting protein; DKFZP586M1824 protein
Identities = 14/14 (100%)

Query: 434 cgcggctcctgccc 447

|||||||

Sbjct: 17 cgcggtcctgccc 4
CDS 1..4527

>gi|29459|emb|X68149.1|HSBLR1A Homo sapiens BLR1 gene for Burkitt's lymphoma receptor 1
Identities = 18/19 (94%)

Query: 434 cgcggtcctgcccagct 452
|||||
Sbjct: 1085 cgcggtcctgaccaagct 1103
CDS 85..1203

>gi|840783|emb|X68829.1|HSMDCR H.sapiens mRNA for MDR15 protein
Identities = 18/19 (94%)

Query: 434 cgcggtcctgcccagct 452
|||||
Sbjct: 1154 cgcggtcctgaccaagct 1172
CDS 289..1272

>gi|5032094|ref|NM_005630.1| Homo sapiens solute carrier family 21 (prostaglandin transporter), member 2 (SLC21A2), mRNA
Identities = 17/17 (100%)

Query: 437 ggctcctgcccagctc 453
|||||
Sbjct: 88 ggctcctgcccagctc 104
CDS 84..2015

>gi|4505876|ref|NM_000445.1| Homo sapiens plectin 1, intermediate filament binding protein 500kDa (PLEC1), mRNA
Identities = 17/18 (94%)

Query: 438 gctcctgcccagctcct 455
|||||
Sbjct: 7156 gctcctgcgcaagctcct 7139
CDS 52..13776

/function="high molecular weight cytoskeletal-associated protein which is a component of hemidesmosomes in basal keratinocytes and also a component of the sarcolemma in muscle (HD1)

>gi|22058106|ref|XM_171754.1| Homo sapiens similar to a disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin type) with thrombospondin type 1 motif, 17 preproprotein (LOC257018), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 438 gctcctgcccagct 452
|||||
Sbjct: 91 gctcctgcccagct 77
CDS 1..420

>gi|4505936|ref|NM_002693.1| Homo sapiens polymerase (DNA directed), gamma (POLG), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 438 gctcctgcccagc 451
|||||
Sbjct: 1953 gctcctgcccagc 1966
CDS 283..4002

>gi|533527|gb|U10694.1|HSU10694 Human MAGE-9 antigen (MAGE9) gene, complete cds
Identities = 18/19 (94%)

Query: 438 gctcctgcccagctcctg 456
|||||||
Sbjct: 1290 gctcctgcccacgctcctg 1308
exon 1268..>2845
CDS 1333..2280

>gi|4758361|ref|NM_004112.1| Homo sapiens fibroblast growth factor 11 (FGF11), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 442 ctgcccagctcctgg 457
|||||||
Sbjct: 589 ctgcccagctcctgg 604
CDS 1..678

>gi|13435128|ref|NM_022089.1| Homo sapiens putative ATPase (HSA9947), mRNA
Identities = 17/18 (94%)

Query: 442 ctgcccagctcctgggc 459
|||||||
Sbjct: 2555 ctgcccaggtcctgggc 2572
CDS 35..3577

>gi|24308028|ref|NM_015296.1| Homo sapiens zizimin1 (zizimin1), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 445 cccaagctcctggc 458
|||||||
Sbjct: 2431 cccaagctcctggc 2418
CDS 56..6265
note="Cdc42 activator"

>gi|22043940|ref|XM_060678.5| Homo sapiens similar to Synaptotagmin II (SytII) (LOC127833), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 445 cccaagctcctggc 458
|||||||
Sbjct: 540 cccaagctcctggc 527
CDS 1..1278

>gi|18599586|ref|XM_092362.1| Homo sapiens similar to evidence:NAS-hypothetical protein-putative (LOC165086), mRNA
Identities = 17/18 (94%)

Query: 448 aagctcctggctaggag 465
|||||||
Sbjct: 776 aagctcctggctaggag 759
CDS 1..936

>gi|23336903|tpg|BK000566.1| TPA: Homo sapiens SF3b125 DEAD-box protein mRNA, complete cds,
Identities = 14/14 (100%)

Query: 452 tcctggctaggag 465
|||||||
Sbjct: 399 tcctggctaggag 386

CDS 1..2460

>gi|22052707|ref|XM_172523.1| Homo sapiens similar to N-formyl peptide
receptor (LOC256135), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 460 taggagtaaggcca 473
|||||||
Sbjct: 410 taggagtaaggcca 397
CDS 81..560

>gi|474428|emb|Z31702.1|HSP53DN H.sapiens p5-3 DNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 461 aggagtaaggccatgg 476
|||||||
Sbjct: 264 aggagtaaggccatgg 279
1..1464

Non-homologous recombination within the major histocompatibility
complex creates a transcribed hybrid sequence

>gi|18550199|ref|XM_059368.2| Homo sapiens similar to thymidylate kinase
family LPS-inducible member; thymidylate kinase homologue (LOC129607), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 467 aaggccatgggcg 480
|||||||
Sbjct: 23 aaggccatgggcg 10
CDS 16..1365

>gi|6706902|emb|AL109827.8|HSJ309K20 Human DNA sequence from clone RP1-309K20
on chromosome 20 Contains the gene for a novel protein similar to dysferlin, the
SPAG4 gene for sperm associated antigen 4, the CPNE1 gene for Copine I (similar
to KIAA0636), the gene KIAA0765 (HRIHFB2091) for an RNA recognition motif
(RNP, RRM or RBD domain) containing protein and the 3' end of the NIFS
gene for cysteine desulfurase.
Identities = 16/16 (100%)

Query: 468 aggccatgggcgcg 483
|||||||
Sbjct: 7506 aggccatgggcgcg 7491
CDS 7357..7540

>gi|21614532|ref|NM_144957.1| Homo sapiens protease, serine, 21 (testisin)
(PRSS21), transcript variant 3, mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 468 aggccatgggcgcg 481
|||||||
Sbjct: 102 aggccatgggcgcg 115
CDS 107..1009

>gi|18087852|ref|NM_080672.1| Homo sapiens Q9H4T4 like (H17739), mRNA
Identities = 18/19 (94%)

Query: 469 ggccatgggcgcgccggc 487
|||||||
Sbjct: 141 ggccatgggcccggccggc 123
CDS 136..1815

>gi|790818|gb|L39891.1|HUMPKD1GEN Homo sapiens polycystic kidney disease-associated protein (PKD1) gene,
Identities = 16/16 (100%)

Query: 475 gggcgcgccggccgc 490
|||||||
Sbjct: 50097 gggcgcgccggccgc 50082
CDS 49997..50171

>gi|24429581|ref|NM_153813.1| Homo sapiens friend of GATA-1 (FOG1), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 475 gggcgcgccggccgc 487
|||||||
Sbjct: 2503 gggcgcgccggccgc 2490
CDS 323..3337

>gi|22094134|ref|NM_032482.1| Homo sapiens histone methyltransferase DOT1L (DOT1L), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 476 ggcgcggccggccgc 489
|||||||
Sbjct: 2314 ggcgcggccggccgc 2301
CDS 37..4650
function="methylates lysine 79 of histone H3"

>gi|4759111|ref|NM_004207.1| Homo sapiens solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 3 (SLC16A3), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 477 gcgcggccggccgc 490
|||||||
Sbjct: 891 gcgcggccggccgc 904
CDS 63..1460

>gi|20544351|ref|XM_005702.8| Homo sapiens wingless-type MMTV integration site family, member 8B (WNT8B), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 477 gcgcggccggccgc 490
|||||||
Sbjct: 808 gcgcggccggccgc 821
CDS 129..1184

>gi|23452045|gb|AF494409.1| Homo sapiens pantothenate kinase 2 mRNA, complete cds
Identities = 15/15 (100%)

Query: 480 cggccggccgcctct 494
|||||||
Sbjct: 279 cggccggccgcctct 265
CDS 7..1719

gi|2213644|gb|U63833.1|HSU63833 Human PAX6 gene, promoter region and exons 1 and 2
Identities = 16/16 (100%)

Query: 482 gccggccgcctctgct 497
|||||||
Sbjct: 114 gccggccgcctctgct 129

promoter 1..3274

/note="isoform 2 is encoded by transcript variant 2; ortholog of mouse CNR5; KIAA0345-like 1"

>gi|14589892|ref|NM_001794.2| Homo sapiens cadherin 4, type 1, R-cadherin (retinal) (CDH4), mRNA

Identities = 15/15 (100%)

Query: 483 ccggccgcctctgct 497

|||||

Sbjct: 2841 ccggccgcctctgct 2827

CDS 15..2765

This gene is a classical cadherin from the cadherin superfamily. The encoded protein is a calcium-dependent cell-cell adhesion glycoprotein. studies

>gi|11545830|ref|NM_022114.1| Homo sapiens PR domain containing 16 (PRDM16), mRNA/ Identities = 15/15 (100%)

Query: 483 ccggccgcctctgct 497

|||||

Sbjct: 1638 ccggccgcctctgct 1652

gene 1..4376

>gi|14165396|ref|NM_031865.1| Homo sapiens protocadherin alpha 13 (PCDHA13), transcript variant 2, Identities = 16/16 (100%)

Query: 484 cggccgcctctgctgc 499

|||||

Sbjct: 2268 cggccgcctctgctgc 2253

CDS 1..2424

>gi|12697311|emb|AJ295990.1|HSA295990 Homo sapiens mRNA for putative chromatin modulator, alternative splice NSD3L Identities = 15/15 (100%)

Query: 485 ggccgcctctgctgc 499

|||||

Sbjct: 4514 ggccgcctctgctgc 4528

CDS 314..4627

/note="alternative splice NSD3L"

<gi|12642816|gb|AF332469.1|AF332469 Homo sapiens putative protein WHSC1L1 (WHSC1L1) mRNA, complete cds, alternatively spliced Identities = 15/15 (100%)

Query: 485 ggccgcctctgctgc 499

|||||

Sbjct: 4719 ggccgcctctgctgc 4733

CDS 519..4832

>gi|17474463|ref|XM_062506.1| Homo sapiens similar to 60S acidic ribosomal protein P2 (LOC121193), mRNA Identities = 15/15 (100%)

Query: 485 ggccgcctctgctgc 499

|||||

Sbjct: 278 ggccgcctctgctgc 292

CDS 1..351

product="similar to 60S acidic ribosomal protein P2"

>gi|22035673|ref|NM_006031.2| Homo sapiens pericentrin 2 (kendrin) (PCNT2), mRNA

Score = 30.2 bits (15), Expect = 88

Identities = 15/15 (100%)

Query: 487 ccgcctctgctgcag 501

|||||

Sbjct: 3442 ccgcctctgctgcag 3428

CDS 53..10063

The protein encoded by this gene binds to calmodulin and is expressed in the centrosome.

>gi|12620204|gb|AF288398.1|AF288398 Homo sapiens Clorf14 mRNA, complete cds
Identities = 16/16 (100%)

Query: 489 gcctctgctgcagatg 504

|||||

Sbjct: 1282 gcctctgctgcagatg 1267

CDS 69..2246

note="alternatively spliced"

>gi|9622520|gb|AF173157.1|AF173157 Homo sapiens MSTP098 (MST098) mRNA, complete cds
Identities = 16/16 (100%)

Query: 489 gcctctgctgcagatg 504

|||||

Sbjct: 329 gcctctgctgcagatg 314

CDS 239..460

>gi|22046810|ref|XM_089096.2| Homo sapiens similar to coxsackievirus and adenovirus receptor-like protein (LOC163724), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 490 cctctgctgcagatg 504

|||||

Sbjct: 578 cctctgctgcagatg 564

CDS 291..1466

misc_feature 552..674

>gi|20070194|ref|NM_006140.2| Homo sapiens colony stimulating factor 2 receptor, alpha, low-affinity (granulocyte-macrophage) (CSF2RA), mRNA
Identities = 17/18 (94%)

Query: 512 tctgcgaccagtggcacc 529

|||||

Sbjct: 248 tctgcgaacagtggcacc 265

CDS 171..1373

>gi|15990415|gb|BC015569.1|BC015569 Homo sapiens, Similar to SRp25 nuclear protein,
Identities = 14/14 (100%)

Query: 517 gaccagtggcaccg 430

|||||

Sbjct: 406 gaccagtggcaccg 419

CDS 37..684

>gi|13624213|gb|AF319045.1|AF319045 Homo sapiens contactin-associated protein 2 (CNTNAP2) mRNA, complete
Identities = 14/14 (100%)

10/539535

Query: 517 gaccagtggcaccg 530
|||||||
Sbjct: 2778 gaccagtggcaccg 2791
CDS 141..4136

>gi|14702161|ref|NM_032421.1| Homo sapiens cytoplasmic linker 2 (CYLN2),
transcript variant 2,
Identities = 14/14 (100%)

Query: 519 ccagtggcaccgcc 532
|||||||
Sbjct: 314 ccagtggcaccgcc 327
CDS 328..3363
note="synonyms: WSCR4, WBSCR4, CLIP-115, KIAA0291, MGC11333"
note="isoform 2 is encoded by transcript variant 2;
Williams-Beuren syndrome chromosome region 4"

>gi|22044320|ref|XM_086178.5| Homo sapiens agrin (AGRN), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 419 ccagtggcaccgcc 432
|||||||
Sbjct: 4325 ccagtggcaccgcc 4338
CDS 366..6107
>gi|4885506|ref|NM_005468.1| Homo sapiens N-acetylated alpha-linked acidic
dipeptidase-like; ILEAL DIPEPTIDYLPEPTIDASE (NAALADASEL), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 520 cagtggcaccgccg 533
|||||||
Sbjct: 1156 cagtggcaccgccg 1169
CDS 17..2239
/function="peptidase"

>gi|23943861|ref|NM_020378.1| Homo sapiens K562 cell-derived leucine-zipper-
like protein 1 (KLP1), mRNA
Identities = 15/15 (100%)
Query: 523 tggcaccgccgccgg 538
|||||||
Sbjct: 486 tggcaccgccgccgg 500
CDS 90..710
note="K562 cells-derived leucine-zipper-like protein 1"

>gi|20384683|gb|AY030095.1| Homo sapiens pancreasin mRNA, complete cds
Identities = 17/17 (100%)

Query: 524 ggcaccgccgccggccg 540
|||||||
Sbjct: 23 ggcaccgccgccggccg 7
CDS 1..873
note="CAPH2; channel-activating protease 2; tryptic serine protease; similar to
marapsin"

>gi|20552317|ref|XM_096904.4| Homo sapiens Kruppel-like factor 13 (KLF13),
Identities = 15/15 (100%)

Query: 525 gcaccgccgccggcc 539
|||||||
Sbjct: 20 gcaccgccgccggcc 34
CDS 47..913

note="synonyms: BTEB3, FKLF2, NSLP1, FKLF-2, RFLAT1, RFLAT-1"
 /product="similar to Krueppel-like factor 13"

>gi|14727714|ref|XM_045113.1| Homo sapiens astrotactin (ASTN), mRNA
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 525 gcaccgccgccggcc 539
 |||||
 Sbjct: 72 gcaccgccgccggcc 58
 CDS 15..3899
 product="similar to KIAA0289"

>gi|22538424|ref|NM_145691.2| Homo sapiens ATP synthase mitochondrial F1
 complex assembly factor 2 (ATPAF2), nuclear gene encoding mitochondrial protein,
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 525 gcaccgccgccggc 538
 |||||
 Sbjct: 947 gcaccgccgccggc 960
 CDS 154..1023

>gi|22065230|ref|XM_035037.2| Homo sapiens low density lipoprotein receptor-
 related protein 4 (LRP4), mRNA
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 526 caccgccgccggcc 539
 |||||
 Sbjct: 2107 caccgccgccggcc 2120
 CDS 232..4839
 product="similar to MEGF7"

>gi|20545806|ref|XM_007095.6| Homo sapiens insulin receptor substrate 2
 (IRS2), mRNA
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 526 caccgccgccggcc 539
 |||||
 Sbjct: 3613 caccgccgccggcc 3626
 CDS 516..4532

>gi|4506228|ref|NM_002809.1| Homo sapiens proteasome (prosome, macropain) 26S
 subunit, non-ATPase, 3 (PSMD3), mRNA
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 526 caccgccgccggcc 539
 |||||
 Sbjct: 237 caccgccgccggcc 250
 CDS 158..1762

>gi|1657753|gb|U63721.1|HSU63721 Human elastin (ELN) gene, partial cds, and
 LIM-kinase (LIMK1) gene,
 Identities = 14/14 (100%)

Query: 526 caccgccgccggcc 539
 |||||
 Sbjct: 23610 caccgccgccggcc 23597
 exon 23511..23730
 /gene="LIMK1"

>gi|5823551|gb|AF180522.1|AF180522 Homo sapiens intersectin short form 2
 (ITSN) mRNA, partial cds

Identities = 14/14 (100%)

Query: 526 caccgccgccggcc 539

|||||||

Sbjct: 158 caccgccgccggcc 171

CDS <1..566

>gi|181652|gb|M85247.1|HUMDOPAM H.sapiens dopamine D1A receptor gene, complete exon 1, and exon 2, 5' end

Identities = 14/14 (100%)

Query: 531 ccgccgccgttct 543

|||||||

Sbjct: 1097 ccgccgccgttct 1110

misc_signal 842..1231

function="negative transcriptional modulator"

>gi|23395757|tpg|BK000395.1| TPA: Homo sapiens aflatoxin B1-aldehyde reductase (AKR7A2) mRNA,

Identities = 14/14 (100%)

Query: 544 tcgccaccgccag 567

|||||||

Sbjct: 312 tcgccaccgccag 299

CDS 23..1102

/note="aldo-keto reductase; serves as a gamma-hydroxybutyrate synthase; the full-length protein is predicted to contain 29 additional amino acids at the N-terminus that have not been recognized previously"

>gi|7706102|ref|NM_016568.1| Homo sapiens G-protein coupled receptor SALPR; somatostatin and angiotensin-like peptide receptor (SALPR), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 547 ccaccgccagaag 560

|||||||

Sbjct: 781 ccaccgccagaag 768

CDS 361..1770

misc_feature 697..1527

note="7tm_1; Region: 7 transmembrane receptor (rhodopsin family)"

>gi|18568985|ref|XM_095373.1| Homo sapiens similar to Neutrophil defensin 4 precursor (HNP-4) (HP4) (Defensin, alpha 4) (LOC157295), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 552 gcccagaagcagcc 565

|||||||

Sbjct: 181 gcccagaagcagcc 194

CDS 1..375

misc_feature 145..243

>gi|22053899|ref|XM_092083.2| Homo sapiens similar to golgi autoantigen, golgin subfamily a, 2; golgin-95 (LOC163220), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 552 gcccagaagcagcc 565

|||||||

Sbjct: 505 gcccagaagcagcc 518

CDS 1..1452

>gi|22053411|ref|XM_050604.4| Homo sapiens AIE-75 binding protein protein
(MCC2), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 553 cccagaagcagccc 566

|||||

Sbjct: 407 cccagaagcagccc 420

CDS 114..2225

>gi|4505326|ref|NM_000263.1| Homo sapiens N-acetylglucosaminidase, alpha-
(Sanfilippo disease IIIB) (NAGLU), mRNA
Identities = 17/18 (94%)

Query: 553 gccagaagcagcccgcc 569

|||||

Sbjct: 1609 gccagaagctgcccgcc 1626

CDS 333..2564

/function="one of four enzymes involved in the degradation of heparan sulfate;
specifically removes the alpha-N-acetylglucosamine residues"

>gi|15718672|ref|NM_000683.2| Homo sapiens adrenergic, alpha-2C-, receptor
(ADRA2C), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 553 cccagaagcagccc 566

|||||

Sbjct: 2530 cccagaagcagccc 2517

CDS 892..2277

/note="alpha2-AR-C4"

/product="alpha-2C-adrenergic receptor"

>gi|15812179|ref|NM_004926.2| Homo sapiens zinc finger protein 36, C3H type-
like 1 (ZFP36L1), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 553 cccagaagcagcccg 578

|||||

Sbjct: 432 cccagaagcagcccg 446

CDS 131..1147

/note="EGF-response factor 1; early response factor Berg36; zinc finger protein,
C3H type, 36-like 1"

/product="butyrate response factor 1"

>gi|20556994|ref|XM_039877.5| Homo sapiens mucin 5, subtype B,
tracheobronchial (MUC5B), mRNA
Identities = 17/18 (94%)

Query: 555 cagaagcagcccgccgccc 572

|||||

Sbjct: 1580 cagaagcagccctccgccc 1563

CDS 46..2688

/db_xref="MIM:600770"

>gi|22060317|ref|XM_114498.2| Homo sapiens similar to Tcte-1 peptide
(LOC202500), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 556 agaagcagcccgccc 569

|||||

Sbjct: 1317 agaagcagcccgccc 1330

CDS 346..1401

10/539535

>gi|4505032|ref|NM_000752.1| Homo sapiens leukotriene B4 receptor (LTB4R),
Identities = 19/20 (95%)/note="Chemokine receptor-like 1"

Query: 559 agcagcccgcgcgcggcgca 578

||||| |||||||||

Sbjct: 2595 agcaggccgcgcgcggcgca 2576 CDS: 1718..2776

>gi|1648869|emb|X98356.1|HSGPCRCO H.sapiens mRNA for G protein-coupled
receptor
Identities = 19/20 (95%)

Query: 559 agcagcccgcgcgcggcgca 578

||||| |||||||||

Sbjct: 1266 agcaggccgcgcgcggcgca 1247 CDS: 389..1447

>gi|5032110|ref|NM_005634.1| Homo sapiens SRY (sex determining region Y)-box 3
(SOX3), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 559 agcagcccgcgcgcggcg 573

||||| |||||||||

Sbjct: 862 agcagcccgcgcgcggcg 876
CDS 1..1332

>gi|20548635|ref|XM_167923.1| Homo sapiens homeobox protein Gsh-1 (Gsh-1),
Identities = 14/14 (100%)

Query: 560 gcagcccgcgcgcggcg 573

||||| |||||||||

Sbjct: 116 gcagcccgcgcgcggcg 129
CDS 49..843

>gi|8923792|ref|NM_017514.1| Homo sapiens likely ortholog of mouse plexin 3
(PLXN3), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 561 cagcccgcgcgcggcg 574

||||| |||||||||

Sbjct: 2896 cagcccgcgcgcggcg 2909
CDS 185..5800

>gi|9247121|gb|AF284224.1|AF284224 Homo sapiens DMRT2 and terra-like protein
(DMRT2) bicistronic mRNA,
Identities = 16/16 (100%)

Query: 561 cagcccgcgcgcggcg 576

||||| |||||||||

Sbjct: 111 cagcccgcgcgcggcg 126
CDS 1..681

/note="putative transcription factor"

>gi|6179565|emb|Y19052.1|HOSA19052 Homo sapiens mRNA for doublesex-like 2
protein (DSXL-2 gene)
Identities = 16/16 (100%)
Strand = Plus / Plus

Query: 561 cagcccgcgcgcggcg 576

||||| |||||||||

Sbjct: 565 cagcccgcgcgcggcg 580

CDS 455..1135

>gi|14165271|ref|NM_032409.1| Homo sapiens PTEN induced putative kinase 1
(PINK1), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 561 cagcccgccgcccgcg 574
|||||||
Sbjct: 213 cagcccgccgcccgcg 200
CDS 95..1840
/note="protein kinase BRPK"

>gi|21536278|ref|NM_006371.2| Homo sapiens cartilage associated protein
(CRTAP), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 562 agcccgccgcccgcg 575
|||||||
Sbjct: 295 agcccgccgcccgcg 308
CDS 12..1217
The human cartilage associated protein is homologous to the chick and mouse
CRTAP genes.

>gi|4504646|ref|NM_001560.1| Homo sapiens interleukin 13 receptor, alpha 1
(IL13RA1), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 564 cccgcccgcgcccgcgca 578
|||||||
Sbjct: 103 cccgcccgcgcccgcgca 89
CDS 44..1327

>gi|4507206|ref|NM_003130.1| Homo sapiens sorcin (SRI), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 564 cccgcccgcgcccgcg 577
|||||||
Sbjct: 48 cccgcccgcgcccgcg 35
CDS 13..609

>gi|21735549|ref|NM_002446.2| Homo sapiens mitogen-activated protein kinase
kinase kinase 10 (MAP3K10), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 576 cagcccgccgcccgcg 590
|||||||
Sbjct: 2885 cagcccgccgcccgcg 2899
CDS 289..3153
/note="mixed lineage kinase 2; MKN28 kinase; MKN28 derived
nonreceptor_type serine/threonine kinase"

>gi|18548972|ref|XM_089318.1| Homo sapiens similar to ATP-dependent DNA
helicase MER3 (HFM1 protein) (LOC164045), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 580 ttcttcccgcgcccgcg 593
|||||||
Sbjct: 67 ttcttcccgcgcccgcg 80
CDS 1..2196

10/539535

>gi|13929461|ref|NM_001497.2| Homo sapiens UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 1 (B4GALT1), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 581 tcttcccgccgccc 595
 |||||
Sbjct: 73 tcttcccgccgccc 60
 CDS 73..1269

>gi|21359847|ref|NM_001194.2| Homo sapiens hyperpolarization activated cyclic nucleotide-gated potassium channel 2 (HCN2), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 581 tcttcccgccgccc 594
 |||||
Sbjct: 2191 tcttcccgccgccc 2204
 CDS 54..2723
function="pacemaker channel of human heart"
note="cyclic nucleotide-gated; brain cyclic nucleotide gated channel 2"

>gi|18032269|gb|AF274003.1|AF274003 Homo sapiens splicing-related factor RNPS1 (RNPS1) mRNA, complete cds, alternatively spliced
Identities = 14/14 (100%)

Query:581 tcttcccgccgccc 594
 |||||
Sbjct: 46 tcttcccgccgccc 33
 CDS 46..894

>gi|4504382|ref|NM_001528.1| Homo sapiens HGF activator (HGFAC), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 590 cgccggttcttctcgc 604
 |||||
Sbjct: 1828 cgccggttcttctcgc 1814
 CDS 4..1971

>gi|14196470|ref|NM_032054.1| Homo sapiens protocadherin gamma subfamily A, 5 (PCDHGA5), transcript variant 2, mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 600 ctgcccgttcttct 613
 |||||
Sbjct: 2416 ctgcccgttcttct 2403
 CDS 1..2442

cadherin ME3"

/protein_id="NP_114443.1"

These gene clusters have an immunoglobulin-like organization, suggesting that a novel mechanism may be involved in their regulation and expression.

>gi|19923446|ref|NM_015963.2| Homo sapiens CGI-36 protein (CGI-36), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 600 ctgcccgttcttct 613
 |||||
Sbjct: 947 ctgcccgttcttct 934
 CDS 807..1565

>gi|21314399|gb|AF508782.1| Homo sapiens fibroblast growth factor 10 (FGF10) mRNA, partial cds
Identities = 14/14 (100%)

Query: 604 ccgttcttctcaat 617

|||||

Sbjct: 173 ccgttcttctcaat 160

CDS <1..513

/function="paracrine growth factor for epithelia"

/note="keratinocyte growth factor-2; KGF2; produced by fibroblasts of urinary bladder lamina propria"

>gi|22058975|ref|XM_172182.1| Homo sapiens similar to Ribosomal protein S5; Minute(1)15D; Minute; transcript e (LOC255793), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 606 gttcttctcaatgg 619

|||||

Sbjct: 405 gttcttctcaatgg 392

CDS 1..438

>gi|24797096|ref|NM_006907.2| Homo sapiens pyrroline-5-carboxylate reductase 1 (PYCR1), nuclear gene encoding mitochondrial protein, transcript variant 1, mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 607 ttcttctcaatgga 620

|||||

Sbjct: 598 ttcttctcaatgga 585

CDS 279..1238

/note="isoform 1 is encoded by transcript variant 1; P5C reductase"

>gi|4186165|gb|L41919.1|HUMHIC1G Homo sapiens candidate tumor suppressor HIC-1 (HIC-1) gene, complete
Identities = 20/21 (95%)

Query: 626 cgccccggccgcgccgccgc 646

|||||

Sbjct: 2451 cgccccggccgcgccgccgc 2431 CDS: 637..2781

Isolation and embryonic expression of the novel mouse gene Hic1, the homologue of HIC1, a candidate gene for the Miller-Dieker syndrome

>gi|23238250|ref|NM_032862.2| Homo sapiens tigger transposable element derived 5 (TIGD5) mRNA,
Identities = 18/19 (94%)

Query: 626 cgccccggccgcgccgcc 644

|||||

Sbjct: 510 cgccccggccgcgccgcc 528

CDS 1..1782

>gi|17939629|gb|BC019288.1|BC019288 Homo sapiens, hepatocyte nuclear factor 3, beta, clone
Identities = 18/19 (94%)

Query: 626 ..cgccccggccgcgccgcc 644

|||||

Sbjct: 284 cgccccggccgcgccgcc 266

CDS <1..1370

/product="hepatocyte nuclear factor 3, beta"

>gi|22041040|ref|XM_092478.2| Homo sapiens similar to Gliacolin (LOC165257), mRNA

Identities = 21/23 (91%)

Query:628 ccccgccgcgcgcgcgcgcacc 650

||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 810 ccccgccgcgcgcgcgcgcacc 788

CDS 471..1262

/product="similar to Gliacolin"

>gi|17974541|gb|AF361354.1|AF361354 Homo sapiens voltage-dependent calcium channel gamma-8 subunit(CACNG8) mRNA, complete cds

Identities = 16/16 (100%)

Query: 628 ccccgccgcgcgcgcgcgc 643

||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 1132 ccccgccgcgcgcgcgcgc 1117

CDS 106..1386

>gi|24475868|ref|NM_153836.1| Homo sapiens cellular repressor of E1A-stimulated genes 2 (CREG2),

Identities = 19/20 (95%)

Query: 628 ccccgccgcgcgcgcgcgc 647

||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 177 ccccgccgcgcgcgcgcgc 158

CDS 139..1011

>gi|21237772|ref|NM_016431.2| Homo sapiens mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 2(MAPK8IP2), transcript variant 2, mRNA

Identities = 19/19 (100%)

Query: 629 cccggccgcgcgcgcgcgc 547

||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 1276 cccggccgcgcgcgcgcgc 1294

CDS 1..2394

/note="PRKM8 interacting protein-like; JNK-interacting protein 2; islet-brain 2; JNK MAP kinase scaffold protein JIP2; homologous to mouse JIP-1"

>gi|14971412|ref|NM_015906.2| Homo sapiens tripartite motif-containing 33 (TRIM33), transcript variant alpha, mRNA

Identities = 16/16 (100%)

Query: 629 cccggccgcgcgcgcgc 644

||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 267 cccggccgcgcgcgcgc 252

CDS 85..3468

>gi|13183792|gb|AF336133.1|AF336133 Homo sapiens CECR2 protein (CECR2) mRNA, complete cds

Identities = 16/16 (100%)

Query:629 cccggccgcgcgcgcgc 644

||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 448 cccggccgcgcgcgcgc 433

CDS 419..4873

>gi|22046663|ref|XM_047536.6| Homo sapiens obscurin, cytoskeletal calmodulin and titin-interacting RhoGEF (OBSCN), mRNA

Identities = 15/15 (100%)

Query:631 cggccgcgcgcgcgcgc 645

||||||| ||||||| |||||

Sbjct: 572 cggccgcgcgcgcgcgc 558

CDS 45..18518
/product="similar to obscurin"

>gi|21707308|gb|BC033826.1| Homo sapiens, purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4, clone MGC:45331 IMAGE:5216449, mRNA, complete cds
Identities = 15/15 (100%)

Query:632 ggccgcgcccgc 646

|||||

Sbjct: 24 ggccgcgcccgc 10

CDS 25..1191

/product="purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4"

>gi|21450823|ref|NM_145056.1| Homo sapiens thymus expressed gene 3-like (MGC15476), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 632 ggccgcgcccgc 647

|||||

Sbjct: 879 ggccgcgcccgc 894

CDS 441..1655

>gi|22652729|gb|AF489858.1| Homo sapiens serum amyloid A activating factor 2 mRNA, complete cds
Identities = 16/16 (100%)

Query:632 ggccgcgcccgc 647

|||||

Sbjct: 550 ggccgcgcccgc 565

CDS 113..1594

/note="transcription factor SAF-2"

>gi|20558544|ref|XM_028783.2| Homo sapiens opioid growth factor receptor (OGFR), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query:632 ggccgcgcccgc 646

|||||

Sbjct: 174 ggccgcgcccgc 160

CDS 17..2050

/product="similar to 7-60 protein"

>gi|22042730|ref|XM_114346.2| Homo sapiens similar to source of immunodominant MHC-associated peptides (LOC201595), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query:633 gccgcgcccgc 647

|||||

Sbjct: 345 gccgcgcccgc 331

CDS 200..2680

/product="similar to source of immunodominant MHC-associated peptides"

>gi|4507162|ref|NM_003107.1| Homo sapiens SRY (sex determining region Y)-box 4 (SOX4), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query:634 ccgcgcccgc 649

|||||

Sbjct: 972 ccgcgcccgc 957

CDS 351..1775

10/539535

gi|23395757|tpg|BK000395.1| TPA: Homo sapiens aflatoxin B1-aldehyde reductase (AKR7A2), mRNA,
Identities = 18/19 (94%)

Query:640 cgccccgccaccgccgcggc 658
||||||| |||||
Sbjct: 180 cgccccgccagcgccgcggc 198
CDS 23..1102

>gi|5032110|ref|NM_005634.1| Homo sapiens SRY (sex determining region Y)-box 3 (SOX3), mRNA
Identities = 18/18 (100%)

Query:641 gcccgccaccgccgcggc 658
||||||| |||||
Sbjct: 1044 gcccgccaccgccgcggc 1061
CDS 1..1332

>gi|20589957|ref|NM_139075.1| Homo sapiens two-pore calcium channel protein 2 (TPC2), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query:643 ccgccaccgccgcgg 657
||||||| |||||
Sbjct: 160 ccgccaccgccgcgg 146
CDS 102..2360

>gi|16753218|ref|NM_033224.2| Homo sapiens purine-rich element binding protein B (PURB), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query:643 ccgccaccgccgcgg 657
||||||| |||||
Sbjct: 480 ccgccaccgccgcgg 466
CDS 14..952

>gi|291945|gb|L12398.1|HUMD4C Homo sapiens dopamine receptor D4 (DRD4) mRNA, complete cds
Identities = 15/15 (100%)

Query:643 ccgccaccgccgcgg 657
||||||| |||||
Sbjct: 502 ccgccaccgccgcgg 488
CDS 1..1404

>gi|19401873|gb|AF479827.1| Homo sapiens protein kinase-like protein mRNA, complete cds
Identities = 18/19 (94%)

Query:644 cgccaccgccgcggctggg 662
||||||| |||||
Sbjct: 1907 cgccaccgccgggctggg 1889
CDS 278..2614

>gi|7542578|gb|AF241229.1|AF241229 Homo sapiens GTR-D mRNA, complete cds
Identities = 15/15 (100%)

Query: 651 gccgcggctggggcc 665
||||||| |||||
Sbjct: 682 gccgcggctggggcc 696 CDS: 1..768

10/539535

>gi|23238193|ref|NM_148901.1| Homo sapiens tumor necrosis factor receptor superfamily, member 18 (TNFRSF18), transcript variant 2, mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 652 gccgcggctgggccc 666
|||||||
Sbjct: 820 gccgcggctgggccc 834 CDS: 139..906

>gi|11038623|ref|NM_004426.1| Homo sapiens polyhomeotic-like 1 (Drosophila) (PHC1), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query:671 tcttcacccttgtct 685
|||||||
Sbjct: 1644 tcttcacccttgtct 1658
CDS 210..3224

/note="early development regulator 1; mouse Rae28-like"

>gi|190395|gb|M60494.1|HUMPROFILA Human profilaggrin gene, 3' end
Identities = 15/15 (100%)

Query:678 ccttgtcttcgtcca 692
|||||||
Sbjct: 4236 ccttgtcttcgtcca 4222
exon 949..4447
CDS 1478..4447

>gi|24475953|ref|NM_013433.2| Homo sapiens karyopherin beta 2b, transportin (TRN2), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query:678 ccttgtcttcgtcc 691
|||||||
Sbjct: 2026 ccttgtcttcgtcc 2013
CDS 292..2955
/note="hypothetical protein FLJ12155"

>gi|8923472|ref|NM_017852.1| Homo sapiens NALP2 protein (NALP2), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 685 ttcgtccacgtctag 699
|||||||
Sbjct: 453 ttcgtccacgtctag 439
CDS 88..3276
/note="PYRIN-Containing APAF1-like"

>gi|10198206|gb|AF298547.1| Homo sapiens nucleotide-binding site protein 1 mRNA, complete cds
Identities = 15/15 (100%)

Query:685 ttcgtccacgtctag 699
|||||||
Sbjct: 425 ttcgtccacgtctag 411
CDS 78..3179
/note="NBS1; nucleotide-binding site/leucine-rich repeat (NBS/LRR) family member"

>gi|4504576|ref|NM_002164.1| Homo sapiens indoleamine-pyrrole 2,3 dioxygenase (INDO), mRNA
Identities = 17/17 (100%)

Query:691 cacgtctagttctggga 707

|||||
 Sbjct: 258 cacgtctagttctggga 274
 CDS 23..1234

>Numatrin) pseudogene and the MDFI gene for MyoD family inhibitor (myogenic repressor I-MF
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 697 tagttctgggacctc 711

|||||
 Sbjct: 64761 tagttctgggacctc 64775

CDS complement(64067..64810)

/note="dJ696P19.2 (NPM1 (Nucleophosmin, Numatrin) pseudogene)

>gi|22047835|ref|XM_095174.3| Homo sapiens similar to pol protein (LOC168550), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query:699 gttctgggacctcc 712

|||||
 Sbjct: 1249 gttctgggacctcc 1262
 CDS 1..3315

>gi|4506508|ref|NM_002926.1| Homo sapiens regulator of G-protein signalling 12 (RGS12), mRNA

Identities = 15/15 (100%)

Query: 700 ttctgggacctcccg 714

|||||
 Sbjct: 2786 ttctgggacctcccg 2772 CDS: 55..4185

>gi|22771013|gb|AF542391.1| Homo sapiens selectin P (granule membrane protein 140kDa, antigen CD62) (SELP) gene, complete cds

Identities = 17/18 (94%)

Query:705 ggacctcccgtcaagag 722

|||||
 Sbjct: 6869 ggacctcctgctcaagag 6886
 gene <1..>398

>gi|4758621|ref|NM_004770.1| Homo sapiens potassium voltage-gated channel, Shab-related subfamily, member 2 (KCNB2), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query:711 cccgctcaagagcc 724

|||||
 Sbjct: 1329 cccgctcaagagcc 1316
 CDS 3..2423

>gi|21595817|gb|BC032731.1| Homo sapiens, Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1, Identities = 14/14 (100%)

Query:713 cgctcaagagccag 726

|||||
 Sbjct: 1876 cgctcaagagccag 1889
 source 1..4239

>gi|19172410|gb|AF480461.1| Homo sapiens mixed lineage kinase-related kinase MRK-alpha mRNA,

Identities = 14/14 (100%)

Query:715 ctcaagagccagtg 728

|||||
 Sbjct: 2454 ctcaagagccagtg 2467
 CDS 196..2598

>gi|23272700|gb|BC035910.1| Homo sapiens, mitogen-activated protein kinase
 kinase kinase 7 interacting protein 2,
 Identities = 14/14 (100%)

Query:727 tggtacaccagaag 740
 |||||
 Sbjct: 1758 tggtacaccagaag 1771
 CDS 149..2230

>gi|10947029|ref|NM_006217.2| Homo sapiens serine (or cysteine) proteinase
 inhibitor, clade I(neuroserpin), member 2 (SERPINI2), mRNA
 Identities = 19/20 (95%)

Query:737 gaagtctacttttttttcta 756
 |||||
 Sbjct: 927 gaagtctactttttgttcta 908
 CDS 34..1251

>gi|24638453|ref|NM_170665.1| Homo sapiens ATPase, Ca++ transporting, cardiac
 muscle, slow twitch 2 (ATP2A2), mRNA
 Identities = 14/14 (100%)

Query:765 actttgtcaccaac 778
 |||||
 Sbjct: 586 actttgtcaccaac 573
 CDS 111..3239

>gi|21536291|ref|NM_001081.2| Homo sapiens cubilin (intrinsic factor-cobalamin
 receptor) (CUBN),
 Identities = 14/14 (100%)

Query:765 actttgtcaccaac 778
 |||||
 Sbjct: 8029 actttgtcaccaac 8042
 CDS 27..10898

/note="intrinsic factor-cobalamin receptor; intrinsic factor B12-receptor"

>gi|6912355|ref|NM_012155.1| Homo sapiens echinoderm microtubule associated
 protein like 2 (EML2),
 Identities = 14/14 (100%)

Query:766 ctttgtcaccaact 779
 |||||
 Sbjct: 1595 ctttgtcaccaact 1608
 CDS 36..1985

>gi|18597004|ref|XM_051693.4| Homo sapiens mitogen inducible 2 (MIG2), mRNA
 Identities = 15/15 (100%)

Query: 768 ttgtcaccaacttct 782
 |||||
 Sbjct: 838 ttgtcaccaacttct 852
 CDS: 238..2280

>gi|3335149|gb|AF055377.1|AF055377 Homo sapiens long form transcription factor
 C-MAF (c-maf) mRNA,
 Identities = 15/15 (100%)

Query:771 tcaccaacttctcgt 785
|||||||
Sbjct: 1864 tcaccaacttctcgt 1850
CDS 808..2019
/note="b-zip transcription factor"

>gi|7304920|ref|NM_013449.1| Homo sapiens bromodomain adjacent to zinc finger domain, 2A (BAZ2A),
Identities = 14/14 (100%)

Query:800 tgagtggaggacta 813
|||||||
Sbjct: 1587 tgagtggaggacta 1600
CDS 740..6376

>gi|5419653|emb|AL034553.12|HS914P20 Human DNA sequence from clone RP5-914P20 on chromosome 20q13.13-13.2 Contains the gene for activity-dependent neuroprotective protein (ADNP, KIAA0784), a PSMD10 (proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 10) pseudogene, the DPM1 gene fo
Identities = 19/20 (95%)

Query: 803 gtggaggactaataagactt 822
|||||||
Sbjct: 10723 gtggaggactaatgagactt 10704 misc_feature: 10509..10953

>gi|14388625|gb|AF243083.1|F243081S03 Homo sapiens intrinsic factor-vitamin B12 receptor (CUBN) gene, exons 5 and 6
Identities = 16/16 (100%)

Query:817 gacttatataactgtcc 832
|||||||
Sbjct: 809 gacttatataactgtcc 824
CDS AF243085.1:692..854

>gi|24527258|gb|AY071904.1| Homo sapiens ribonuclease/angiogenin inhibitor (RNH) mRNA, complete
Identities = 17/18 (94%)

Query:824 atactgtccgttctttga 841
|||||||
Sbjct: 532 atactgtcagttctttga 515
CDS 1..1386

>gi|9558724|ref|NM_013291.1| Homo sapiens cleavage and polyadenylation specific factor 1, 160kDa(CPSF1), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query:834 ttctttgagggagg 847
|||||||
Sbjct: 1313 ttctttgagggagg 1300
CDS 52..4380

>gi|20143921|ref|NM_133437.1| Homo sapiens titin (TTN), transcript variant novex-2, mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query:838 ttgagggaggacct 851
|||||||
Sbjct: 56027 ttgagggaggacct 56014
CDS 224..81580

/note="isoform novex-2 is encoded by transcript variant novex-2; connectin; CMH9, included"

Query:839 tgagggaggacctc 852

|||||||

Sbjct: 819 tgagggaggacctc 832

CDS 100..1155

/product="similar to ARP2/3 complex 41 kDa subunit(P41-ARC) (Actin-related protein 2/3 complex subunit 1B) "

>gi|21426828|ref|NM_144773.1| Homo sapiens G protein-coupled receptor 73-like 1 (GPR73L1), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 848 gacctccctatgga 861

|||||||

Sbjct: 100 gacctccctatgga 113 CDS: 1..1155

>gi|21327026|gb|AF506288.1| Homo sapiens prokineticin receptor 2 (PKR2) mRNA, complete cds

Identities = 14/14 (100%)

Query: 848 gacctccctatgga 861

|||||||

Sbjct: 100 gacctccctatgga 113 CDS 1..1155

>gi|7669541|ref|NM_013992.1| Homo sapiens paired box gene 8 (PAX8), transcript variant PAX8E,

Identities = 14/14 (100%)

Query: 849 acctccctatggac 862

|||||||

Sbjct: 582 acctccctatggac 595 CDS 161..1024

>gi|16160856|ref|XM_007763.5| Homo sapiens myosin VA (heavy polypeptide 12, myoxin) (MYO5A), mRNA

Identities = 19/20 (95%)

Query:863 cgtaactggagagtctgggg 882

|||||

Sbjct: 724 cgtaagtggagagtctgggg 743

CDS 245..5812

/product="similar to Myosin Va (Myosin 5A) (Dilute myosin heavy chain, non-muscle) (Myosin heavy chain 12) (Myoxin) "

>gi|4757807|ref|NM_001683.1| Homo sapiens ATPase, Ca++ transporting, plasma membrane 2 (ATP2B2),

Identities = 15/15 (100%)

Query:865 taactggagagtctg 879

|||||||

Sbjct: 1298 taactggagagtctg 1312

CDS 577..4173

/note="PMCA-2"

>gi|16904386|ref|NM_013363.2| Homo sapiens procollagen C-endopeptidase enhancer 2 (PCOLCE2), mRNA

Identities = 14/14 (100%)

Query: 867 actggagagtctgg 880

|||||||

Sbjct: 308 actggagagtctgg 321
CDS 197..1444

>gi|7706548|ref|NM_016507.1| Homo sapiens CDC2-related protein kinase 7
(CRK7), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query:868 ctggagagtctgggg 882
|||||||
Sbjct: 2092 ctggagagtctgggg 2078
CDS 34..4506

>gi|24850118|ref|NM_170605.1| Homo sapiens PDZ domain protein (Drosophila
inaD-like) (INADL), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query:868 ctggagagtctggg 881
|||||||
Sbjct: 1570 ctggagagtctggg 1557
CDS 1..5406

>gi|21536251|ref|NM_015678.2| Homo sapiens neurobeachin (NBEA), mRNA
Identities = 14/14 (100%)
Strand = Plus / Plus

Query:868 ctggagagtctggg 879
|||||||
Sbjct: 3008 ctggagagtctggg 3021
CDS 207..9047

>gi|21434742|gb|AF467288.1| Homo sapiens BCL8B protein (BCL8B) mRNA, complete
Identities = 14/14 (100%)

Query:868 ctggagagtctggg 881
|||||||
Sbjct: 3008 ctggagagtctggg 3021
CDS 207..9047

>gi|7662409|ref|NM_014963.1| Homo sapiens KIAA0963 protein (KIAA0963), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 868 ctggagagtctgggg 882
|||||||
Sbjct: 2832 ctggagagtctgggg 2846 CDS 216..4316

>gi|22041826|ref|XM_172259.1| Homo sapiens similar to 60S ribosomal protein
L21 (LOC255888), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query:869 tggagagtctgggggt 884
|||||||
Sbjct: 530 tggagagtctgggggt 545
CDS 1..579

>gi|17157996|ref|NM_058167.1| Homo sapiens ubiquitin-conjugating enzyme E2, J2
(UBE2J2), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query:870 ggagagtctgggggt 883
|||||||
Sbjct: 652 ggagagtctgggggt 639
CDS 205..879

>gi|23308602|ref|NM_015460.1| Homo sapiens myosin VIIA and Rab interacting protein (MYRIP), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query:871 gagagtctgggggttc 885
|||||
Sbjct: 1861 gagagtctgggggttc 1847
CDS 137..2716

>gi|6912705|ref|NM_012455.1| Homo sapiens SEC7 homolog (TIC), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query:872 agagtctgggggttc 885
|||||
Sbjct: 762 agagtctgggggttc 749
CDS 64..3234
/note="ADP-ribosylation factor guanine nucleotide-exchange factor 6"

>gi|22051239|ref|XM_048346.4| Homo sapiens insulin receptor (INSR), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query:884 tcgttgaccgtctt 897
|||||
Sbjct: 3251 tcgttgaccgtctt 3238
CDS 181..4218

>gi|4507600|ref|NM_003807.1| Homo sapiens tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 14 (TNFSF14), mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query: 901 cggtcttacttcgg 914
|||||
Sbjct: 742 cggtcttacttcgg 755
CDS 49..771

>gi|2745709|gb|U89310.1|AH005788S02 Homo sapiens nucleophosmin phosphoprotein (NPM) gene, exon 2
Identities = 14/14 (100%)

Query: 908 acttcggttctttt 921
|||||
Sbjct: 411 acttcggttctttt 424 CDS U89311.1:416..535

>gi|20521002|dbj|AB002333.2| Human mRNA for KIAA0335 gene, partial cds
Identities = 18/18 (100%)

Query: 914 gttctttttaatttcttc 931
|||||
Sbjct: 216 gttctttttaatttcttc 233 CDS <829..5283

>gi|19923778|ref|NM_006479.2| Homo sapiens RAD51-interacting protein (PIR51), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query:915 ttctttttaatttctt 930
|||||
Sbjct: 703 ttctttttaatttctt 688
CDS 51..1058

>gi|4505610|ref|NM_002582.1| Homo sapiens poly(A)-specific ribonuclease
(deadenylation nuclease) (PARN), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query:915 ttctttttaatttctt 930
|||||
Sbjct: 1897 ttctttttaatttctt 1882
CDS 58..1977

>gi|20538519|ref|XM_057659.6| Homo sapiens similar to RIKEN cDNA 2310005N03
(LOC116228), mRNA
Identities = 18/18 (100%)

Query: 915 ttctttttaatttcttct 932
|||||
Sbjct: 629 ttctttttaatttcttct 612 CDS 337..693

>gi|18579348|ref|XM_090294.1| Homo sapiens similar to 10-
formyltetrahydrofolate dehydrogenase(LOC160428), mRNA
Identities = 19/19 (100%)

Query: 916 tctttttaatttcttctac 934
|||||
Sbjct: 2263 tctttttaatttcttctac 2245 CDS 1..2928

>gi|4503510|ref|NM_003758.1| Homo sapiens eukaryotic translation initiation
factor 3, subunit 1 alpha, 35kDa (EIF3S1), mRNA
Identities = 17/17 (100%)

Query: 916 tctttttaatttcttct 932
|||||
Sbjct: 352 tctttttaatttcttct 336 CDS 61..837

>gi|23271901|gb|BC036021.1| Homo sapiens, Similar to Bmp2-inducible kinase,
Identities = 20/21 (95%)

Query:917 ctttttaatttcttctactac 937
|||||
Sbjct: 796 ctttttaatttcttcttctac 776
CDS 128..2116

>gi|18375633|ref|NM_004639.2| Homo sapiens HLA-B associated transcript 3
(BAT3), transcript variant 1, mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 931 ctactacgaggttct 945
|||||
Sbjct: 1172 ctactacgaggttct 1186 CDS 285..3683

>gi|17485359|ref|XM_066371.1| Homo sapiens LOC129184 (LOC129184), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query:1016 tgtgggtgccagggtc 1031
|||||
Sbjct: 866 tgtgggtgccagggtc 851 CDS 1..960

>gi|12653994|gb|BC000795.1|BC000795 Homo sapiens, hypothetical protein
Identities = 15/15 (100%)

Query:1017 gtgggtgccagggtc 1031
|||||

Sbjct: 306 gtgggtgccagggtc 292 CDS 49..1260

>gi|1668741|emb|X90762.1|HSHHA5GEN Homo sapiens hHa5 gene
Identities = 16/16 (100%)

Query: 1018 tgggtgccagggtctc 1033

|||||||

Sbjct: 1215 tgggtgccagggtctc 1230 exon 1112..1365 number=8

>gi|18582587|ref|XM_090689.1| Homo sapiens similar to S antigen precursor -
malaria parasite (Plasmodium falciparum) (strain Wellcome) (LOC161088),
mRNA
Identities = 19/20 (95%)

Query: 1019 gggtgccagggtctcagggtg 1038

|||||||

Sbjct: 372 gggtgccagcgtctcagggtg 353 CDS 1..1221 Chr. 13

>gi|9863549|emb|AL157718.10| Human DNA sequence from clone RP11-23013 on
chromosome 20 Contains a putative novel gene, a CpG island, ESTs and GSSs,
complete sequence [Homo sapiens]
Identities = 19/20 (95%)

Query: 1021 gtgccagggtctcagggtgca 1040

|||||||

Sbjct: 40364 gtgccagggtctcagggtgca 40345

misc_feature complement(40329..40883) note="match: GSS: Em:AQ606491"

>gi|35258|emb|X13345.1|HSPAI19 Human gene for plasminogen activator inhibitor
1 (PAI-1) exon 9/ Identities = 19/20 (95%)

Query: 1024 ccagggtctcagggtgcagac 1043

|||||||

Sbjct: 264 ccagggtctcagggtggagac 245

precursor_RNA <1..1835 /note="primary transcript"

>gi|18581862|ref|XM_090590.1| Homo sapiens LOC160925 (LOC160925), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 1064 agcaactctcgagtt 1078

|||||||

Sbjct: 374 agcaactctcgagtt 360 CDS 1..870

>gi|24660383|gb|BC039025.1| Homo sapiens, Similar to tyrosine 3-
monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, epsilon
polypeptide, clone MGC:47805 IMAGE:6070099, mRNA,
Identities = 17/17 (100%)

Query: 1077 ttctcgattttgctgtgg 1093

|||||||

Sbjct: 58 ttctcgattttgctgtgg 74

CDS 107..883

>gi|18253109|dbj|AB065437.1| Homo sapiens C1s gene for complement C1s,
promoter region and exon 1
Identities = 15/15 (100%)

Query: 1112 ttttcgggaaagtca 1124 (Exon wechsel)

|||||||

Sbjct: 2584 ttttcgggaaagtca 2570

promoter 1..2826

/function="complement activation"
exon 2827..2978

>gi|22047240|ref|XM_175003.1| Homo sapiens LOC256626 (LOC256626), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query: 1785 gaaaagtgcactgaa 1799
|||||||
Sbjct: 1768 gaaaagtgcactgaa 1754 CDS 1..1914

>gi|11990557|gb|AF170052.1|AF170052 HIV-2 isolate 97227 from France envelope
glycoprotein (env) gene, partial cds
Identities = 15/15 (100%)

Query: 1825 gtatggcctctgtcc 1839
|||||||
Sbjct: 866 gtatggcctctgtcc 852 CDS <1..>2243

>gi|4502528|ref|NM_000721.1| Homo sapiens calcium channel, voltage-dependent,
alpha 1E subunit(CACNA1E), mRNA, note="brain specific"
Identities = 15/15 (100%)

Query: 1827 atggcctctgtccgg 1841
|||||||
Sbjct: 1433 atggcctctgtccgg 1419 CDS 166..6921

>gi|20559017|ref|XM_166786.1| Homo sapiens similar to SUMO-1 activating enzyme
subunit 1; SUMO-1 activating enzyme E1 N subunit; sentrin/SUMO-activating
protein AOS1; ubiquitin-like protein SUMO-1 activating enzyme (LOC220311), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 1842 gatacacacggggaag 1857
|||||||
Sbjct: 886 gatacacacggggaag 901 CDS 1..1134

/gene="LOC220311">gi|4758617|ref|NM_004693.1| Homo sapiens cytokeratin type II
(K6HF), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 1845 acacacggggaagctg 1860
|||||||
Sbjct: 366 acacacggggaagctg 351 CDS 19..1674

>gi|17149843|ref|NM_057092.1| Homo sapiens FK506 binding protein 2, 13kDa
(FKBP2), transcript variant 2, mRNA
Identities = 14/14 (100%)

Query:1847 acacggggaagctg 1860
|||||||
Sbjct: 269 acacggggaagctg 282
CDS 103..531
misc_feature 223..504
/note="FKBP; Region: FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase"

>gi|20127426|ref|NM_002252.2| Homo sapiens potassium voltage-gated channel,
delayed-rectifier, subfamily S, member 3 (KCNS3), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query:1847 acacggggaagctgc 1861
|||||||
Sbjct: 653 acacggggaagctgc 667

CDS

403..1878

>gi|24981010|gb|BC039695.1| Homo sapiens, Janus kinase 2 (a protein tyrosine kinase), clone
Identities = 14/14 (100%)

Query:1865 cattattcttcaaa 1878
|||||||
Sbjct: 3354 cattattcttcaaa 3341
CDS 108..3497

>gi|20149552|ref|NM_004414.3| Homo sapiens Down syndrome critical region gene 1 (DSCR1), mRNA
Identities = 15/15 (100%)

Query:1872 cttcaaacgagtcag 1886
|||||||
Sbjct: 215 cttcaaacgagtcag 229
CDS 66..659

>gi|6648540|gb|U53821.1|HSU53821 Homo sapiens adapt78 protein gene, partial
Identities = 15/15 (100%)

Query:1872 cttcaaacgagtcag 1886
|||||||
Sbjct: 219 cttcaaacgagtcag 233
CDS 70..>562

>gi|8922685|ref|NM_018228.1| Homo sapiens hypothetical protein FLJ10811 (FLJ10811), mRNA
Identities = 17/17 (100%)

Query: 1955 ctggaagagctggggcc 1971
|||||||
Sbjct: 923 ctggaagagctggggcc 907 CDS 146..2254

>gi|17298301|gb|AF283402.1|F283327S74 Homo sapiens candidate tumor suppressor protein (LRP1B) gene, exon 76
Identities = 17/17 (100%)

Query: 2034 ttcttaaaatttttact 2050
|||||||
Sbjct: 307 ttcttaaaatttttact 291 CDS
join(AF283376.1:<285..407,AF283377

>gi|20545629|ref|XM_121159.1| Homo sapiens LOC206321 (LOC206321), mRNA
Identities = 25/28 (89%)

Query: 2133 agatagaacgagacattagagcaaagtt 2161
|||||||
Sbjct: 527 agatagaacgagatctgagagcaaagtt 500 CDS 1..1176

>gi|22054646|ref|XM_069110.2| Homo sapiens similar to hypothetical protein FLJ23231 (LOC134973), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 2155 caaagtttttgttcca 2170
|||||||
Sbjct: 915 caaagtttttgttcca 930 CDS 1..2475

>gi|6382057|ref|NM_007313.1| Homo sapiens v-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1 (ABL1), transcript variant b, mRNA
Identities = 18/18 (100%)

Query: 2163 ttgttcacaaaaacatt 2180
|||||
Sbjct: 135 ttgttcacaaaaacatt 118 CDS 1..3447

>gi|3095103|gb|AF044579.1|AF044579 Homo sapiens translocation related non-coding gene (TNRG10) mRNA, complete sequence
Identities = 17/17 (100%)

Query: 2164 tgttcacaaaaacatt 2180
|||||
Sbjct: 2361 tgttcacaaaaacatt 2345
gene 1..2726
repeat_region 326..547
repeat_region 2599..2709

Intron (BB/SHR)

>gi|5453963|ref|NM_006251.1| Homo sapiens protein kinase, AMP-activated, alpha 1 catalytic subunit (PRKAA1), mRNA

Identities = 16/16 (100%)

Query: 316 tcttctgagcactcaa 331

|||||
Sbjct: 943 tcttctgagcactcaa 928
CDS 24..1676
note="AMPK alpha 1; Protein kinase, AMP-activated, catalytic, alpha-1"

>gi|23503326|ref|NM_018682.2| Homo sapiens myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 5 (trithorax homolog, Drosophila) (MLL5), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 365 catcagatgaaggatc 380
|||||
Sbjct: 1003 catcagatgaaggatc 988
CDS 202..5778
/note="contains PHD and SET domains; similar to Drosophila trithorax"
/product="myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 5"

>gi|1418773|emb|X97186.1|HSE14 H.sapiens mRNA for E14 protein
Identities = 17/17 (100%)

Query: 428 gaagacaaagagttctt 444

|||||
Sbjct: 1509 gaagacaaagagttctt 1493
CDS 35..4318

>gi|1381666|gb|U58852.1|HSU58852 Human NPAT mRNA, complete cds
Identities = 17/17 (100%)

Query: 428 gaagacaaagagttctt 444

|||||
Sbjct: 1475 gaagacaaagagttcctt 1459
CDS 1..3528

/note="predicted amino acids have three regions which share similarity to annotated domains of transcriptional factor oct-1, nucleolus-cytoplasm shuttle phosphoprotein and protein kinases"

>gi|22065878|ref|XM_040846.5| Homo sapiens nuclear protein, ataxia-telangiectasia locus (NPAT),
Identities = 17/17 (100%)

Query: 428 gaagacaaagagttcctt 444
|||||
Sbjct: 1509 gaagacaaagagttcctt 1493
CDS 35..4318
/product="similar to NPAT"

>gi|18079322|ref|NM_080612.1| Homo sapiens GRB2-associated binding protein 3 (GAB3), mRNA
Identities = 17/17 (100%)

Query: 578 ggggtccaagaccagag 594
|||||
Sbjct: 1254 ggggtccaagaccagag 1238
CDS 33..1793
/function="differentiation signaling"

>gi|20270211|ref|NM_033396.1| Homo sapiens tankyrase 1 binding protein 1, 182kDa (TNKS1BP1), mRNA
Identities = 16/16 (100%)

Query: 583 ccaagaccagagtaaa 598

|||||
Sbjct: 2725 ccaagaccagagtaaa 2740
CDS 308..5497
/product="tankyrase 1-binding protein of 182 kDa"

>gi|21626462|ref|NM_000038.2| Homo sapiens adenomatosis polyposis coli (APC),
Identities = 16/16 (100%)

Query: 616 gacaaaaaggaactg 631
|||||
Sbjct: 8232 gacaaaaaggaactg 8247
CDS 39..8570
/product="adenomatosis polyposis coli"

JC05 Rec'd PCT/PTO 17 JUN 2005

10/539535

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

<120> Verwendung des multifunktionellen Transkriptionsfaktors Yin-Yang-1
und Varianten davon zur Behandlung von Erkrankungen, insbesondere von Typ-1
Diabetes

<130> P 62096

<160> 8

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 2256

<212> DNA

<213> Rattus norv.

<220>

<221> CDS

<222> (73)..(1125)

<223> YY1 (BB/OK)

<220>

<221> misc_feature

<222> (1759)..(1917)

<223> Zinkfinger

<220>

<221> misc_feature

<222> (955)..(1125)

<223> Zinkfinger

<220>

<221> Intron

<222> (1126)..(1758)

<223>

<220>

<221> promoter

<222> (1)..(72)

<223>

<220>

<221> CDS

<222> (1759)..(1938)

<223> YY1 (BB/OK)

<400> 1
 ccgcctcctc gcccgccctc ccgcagccca ggagccgagg ctgccgcggc cgtggcgggc 60
 gagccctcag cc atg gcc tcg ggc gac acc ctc tac att gcc acg gac ggc 111
 Met Ala Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly
 1 5 10
 tcg gag atg cca gcc gag atc gtg gaa ctg cat gag att gag gtg gag 159
 Ser Glu Met Pro Ala Glu Ile Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu
 15 20 25
 acc atc ccg gtg gag act atc gag acc acg gtg gtg ggc gag gag gag 207
 Thr Ile Pro Val Glu Thr Ile Glu Thr Thr Val Val Gly Glu Glu Glu
 30 35 40 45
 gac gac gac gaa gac gac gag gat ggt ggc ggc gga gac cac ggt ggc 255
 Asp Asp Asp Glu Asp Asp Glu Asp Gly Gly Gly Gly Asp His Gly Gly
 50 55 60
 ggg ggc ggc cac ggg cac gct ggc cac cac cat cac cac cac cac cac 303
 Gly Gly Gly His Gly His Ala Gly His His His His His His His His
 65 70 75
 cac cac ccg ccc atg atc gcg ctg cag ccg ctg gtc acc gac gac ccg 351
 His His Pro Pro Met Ile Ala Leu Gln Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro
 80 85 90
 acc caa gtg cac cac cac caa gag gtg att ctg gtg cag acg cgc gag 399
 Thr Gln Val His His His Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu
 95 100 105
 gag gta gtg ggt ggc gac gac tcg gac ggg ctg cgc gcc gag gac ggg 447
 Glu Val Val Gly Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly
 110 115 120 125
 ttc gag gac cag atc ctc att ccg gta ccc gcg ccg gcc ggc gga gac 495
 Phe Glu Asp Gln Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp
 130 135 140
 gac gac tac atc gag cag acg ctg gtc acc gtg gcg gcg gcc ggc aag 543
 Asp Asp Tyr Ile Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys
 145 150 155
 agc ggt ggc ggg tct tcg tcg ggc ggc ggc cgc gtt aag aag ggc ggc 591
 Ser Gly Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly
 160 165 170
 ggc aag aag agc ggc aag aag agt tac ctg ggc agc ggg gcc ggc gcg 639
 Gly Lys Lys Ser Gly Lys Lys Ser Tyr Leu Gly Ser Gly Ala Gly Ala
 175 180 185
 gcg ggc ggt ggc ggc gcc gac ccg ggt aat aag aag tgg gaa cag aag 687
 Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys
 190 195 200 205
 cag gtg cag atc aag acc ctg gag ggc gag ttc tcg gtc acc atg tgg 735
 Gln Val Gln Ile Lys Thr Leu Glu Gly Glu Phe Ser Val Thr Met Trp
 210 215 220
 tct tca gat gaa aaa aaa gat att gac cat gaa aca gtg gtt gaa gag 783

Ser Ser Asp	Glu Lys Lys Asp	Ile Asp His	Glu Thr Val	Val Glu Glu	
	225	230		235	
cag atc att	ggg gag aac tca cct cct gat tat tct gaa tat atg aca				831
Gln Ile Ile	Gly Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr				
	240	245		250	
ggc aag aaa ctc cct cct	gga ggg ata cct ggc att gac ctc tca gac				879
Gly Lys Lys Leu Pro Pro	Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp				
	255	260		265	
ccc aag caa ctg gca gaa ttt gcc aga atg aag cca aga aaa att aaa					927
Pro Lys Gln Leu Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys					
	270	275		280	285
gaa gat gat gct cca aga aca ata gct tgc cct cat aaa ggc tgc aca					975
Glu Asp Asp Ala Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr					
		290		295	300
aag atg ttc agg gat aac tct gct atg aga aag cat ctg cac acc cac					1023
Lys Met Phe Arg Asp Asn Ser Ala Met Arg Lys His Leu His Thr His					
		305		310	315
ggt ccc aga gtc cac gtc tgt gca gaa tgt ggc aaa gcg ttc gtt gag					1071
Gly Pro Arg Val His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu					
		320		325	330
agc tca aag cta aaa cga cac cag ctg gtt cat act gga gaa aag ccc					1119
Ser Ser Lys Leu Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro					
		335		340	345
ttt cag gtagagccag ttctgttcc ccaaactgca agctaggggtg ctgggtcaggg					1175
Phe Gln					
		350			
tggttgatat caagcactat ggggcaccgg ttgggggtatt ttattcccat cctcctgtc					1235
tgcttggggtt cctgggttact gctcgggact gcaggtgtta cagatggggg tggagggatt					1295
atgcgaagca cccccacact aaatttctag cagggtttaca aaaactcaac agttttgttt					1355
tgtagtgagt agtgtgttga attactgata gagtgcttat aagtgtgtgt ggctacagct					1415
ccaggtgaca cttgggtgtg cttatagaag actcgtgagt tgacagttgg catcactaaa					1475
tatcttaate atctgtagtc tacttcctag agtgtctctg aaaacactca agctgtaaat					1535
ttgcactcag cacagccctt ctgtttctca agaactagcc atgggttgtt agtatcagag					1595
atcccagtgt gtcagttcta aaataccctc agaaggggtc cagacgagga aggagggcatg					1655
ctcagcagaa tagtaggtgg tttccatcta agcagtgagc catcgatccc caggttctgg					1715
tctcatttgc caagaggggtt gatatctggg ttttcttga cag tgc aca ttc gaa					1770
				Cys Thr Phe Glu	
					355
ggc tgc ggg aag cgc ttt tca ctg gac ttc aat ttg cgc acg cat gtg					1818
Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn Leu Arg Thr His Val					
		360		365	370

cga atc cat acc gga gac agg ccc tat gtg tgc ccc ttc gac ggt tgt 1866
 Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys Pro Phe Asp Gly Cys
 375 380 385
 aat aag aag ttt gct cag tca act aac ctg aaa tct cac atc tta aca 1914
 Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys Ser His Ile Leu Thr
 390 395 400
 cac gct aaa gcc aaa aac aac cag tgaaaagaag agagaagacc ttctcgaccc 1968
 His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln
 405 410
 cggaagcct cttcaggagt gtgattggga ataaatatgc ctctcctttg tatattatatt 2028
 ctaggaagaa ttttaaaaat gaatcctaca cacttaaggg acatgttttg ataaagtagt 2088
 aaaaatttaa aaaaatactt taataagatg acattgctaa gatgctctat cttgctctgt 2148
 aatctcgttt caaaaacaag gtgtttttgt aaagtgtggc cccaacagga ggacaattca 2208
 tgaacttcgc atcaaaagac aattctttat acaacagtgc taaaaatg 2256

<210> 2
 <211> 411
 <212> PRT
 <213> Rattus norv.

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1759)..(1917)
 <223> Zinkfinger

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (955)..(1125)
 <223> Zinkfinger

<400> 2

Met Ala Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly Ser Glu Met
 1 5 10 15

Pro Ala Glu Ile Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu Thr Ile Pro
 20 25 30

Val Glu Thr Ile Glu Thr Thr Val Val Gly Glu Glu Glu Asp Asp Asp
 35 40 45

Glu Asp Asp Glu Asp Gly Gly Gly Gly Asp His Gly Gly Gly Gly Gly
 50 55 60

His Gly His Ala Gly His His His His His His His His His His Pro
 65 70 75 80

Pro Met Ile Ala Leu Gln Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro Thr Gln Val
85 90 95

His His His Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu Glu Val Val
100 105 110

Gly Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly Phe Glu Asp
115 120 125

Gln Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp Asp Asp Tyr
130 135 140

Ile Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys Ser Gly Gly
145 150 155 160

Gly Ser Ser Ser Gly Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly Gly Lys Lys
165 170 175

Ser Gly Lys Lys Ser Tyr Leu Gly Ser Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly
180 185 190

Gly Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys Gln Val Gln
195 200 205

Ile Lys Thr Leu Glu Gly Glu Phe Ser Val Thr Met Trp Ser Ser Asp
210 215 220

Glu Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu Gln Ile Ile
225 230 235 240

Gly Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr Gly Lys Lys
245 250 255

Leu Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp Pro Lys Gln
260 265 270

Leu Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys Glu Asp Asp
275 280 285

Ala Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr Lys Met Phe
290 295 300

Arg Asp Asn Ser Ala Met Arg Lys His Leu His Thr His Gly Pro Arg
305 310 315 320

Val His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu Ser Ser Lys
 325 330 335

Leu Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro Phe Gln Cys
 340 345 350

Thr Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn Leu Arg
 355 360 365

Thr His Val Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys Pro Phe
 370 375 380

Asp Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys Ser His
 385 390 395 400

Ile Leu Thr His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln
 405 410

<210> 3
 <211> 2256
 <212> DNA
 <213> Rattus norv.

<220>
 <221> CDS
 <222> (73)..(1125)
 <223> YY1 (SHR)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1759)..(1917)
 <223> Zinkfinger

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (955)..(1125)
 <223> Zinkfinger

<220>
 <221> Intron
 <222> (1126)..(1758)
 <223>

<220>
 <221> promoter
 <222> (1)..(72)
 <223>

<220>

<221> CDS

<222> (1759) .. (1938)

<223> YY1 (SHR)

<400> 3

```

ccgcctcctc gccgcctc ccgcagccca ggagccgagg ctgccgcggc cgtggcggcg      60

gagccctcag cc atg gcc tcg ggc gac acc ctc tac att gcc acg gac ggc      111
      Met Ala Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly
        1              5              10

tcg gag atg cca gcc gag atc gtg gaa ctg cat gag att gag gtg gag      159
Ser Glu Met Pro Ala Glu Ile Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu
      15              20              25

acc atc ccg gtg gag act atc gag acc acg gtg gtg ggc gag gag gag      207
Thr Ile Pro Val Glu Thr Ile Glu Thr Thr Val Val Gly Glu Glu Glu
      30              35              40              45

gac gac gac gaa gac gac gag gat ggt ggc ggc gga gac cac ggt ggc      255
Asp Asp Asp Glu Asp Asp Glu Asp Gly Gly Gly Gly Asp His Gly Gly
      50              55              60

ggg ggc ggc cac ggg cac gct ggc cac cac cat cac cac cac cac cac      303
Gly Gly Gly His Gly His Ala Gly His His His His His His His His
      65              70              75

cac cac ccg ccc atg atc gcg ctg cag ccg ctg gtc acc gac gac ccg      351
His His Pro Pro Met Ile Ala Leu Gln Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro
      80              85              90

acc caa gtg cac cac cac caa gag gtg att ctg gtg cag acg cgc gag      399
Thr Gln Val His His His Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu
      95              100              105

gag gta gtg ggt ggc gac gac tcg gac ggg ctg cgc gcc gag gac ggg      447
Glu Val Val Gly Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly
      110              115              120              125

ttc gag gac cag atc ctc att ccg gta ccc gcg ccg gcc ggc gga gac      495
Phe Glu Asp Gln Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp
      130              135              140

gac gac tac atc gag cag acg ctg gtc acc gtg gcg gcg gcc ggc aag      543
Asp Asp Tyr Ile Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys
      145              150              155

agc ggt ggc ggg tct tcg tcg ggc ggc ggc cgc gtt aag aag ggc ggc      591
Ser Gly Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly
      160              165              170

ggc aag aag agt ggc aag aag agt tac ctg ggc agc ggg gcc ggc gcg      639
Gly Lys Lys Ser Gly Lys Lys Ser Tyr Leu Gly Ser Gly Ala Gly Ala
      175              180              185

gcg ggc ggt ggc ggc gcc gac ccg ggt aat aag aag tgg gaa cag aag      687
Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys
      190              195              200              205

```

cag gtg cag atc aag acc ctg gag ggc gag ttc tcg gtc acc atg tgg 735
 Gln Val Gln Ile Lys Thr Leu Glu Gly Glu Phe Ser Val Thr Met Trp
 210 215 220

tct tca gat gaa aaa aaa gat att gac cat gaa aca gtg gtt gaa gag 783
 Ser Ser Asp Glu Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu
 225 230 235

cag atc att ggg gag aac tca cct cct gat tat tct gaa tat atg aca 831
 Gln Ile Ile Gly Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr
 240 245 250

ggc aag aaa ctc cct cct gga ggg ata cct ggc att gac ctc tca gac 879
 Gly Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp
 255 260 265

ccc aag caa ctg gca gaa ttt gcc aga atg aag cca aga aaa att aaa 927
 Pro Lys Gln Leu Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys
 270 275 280 285

gaa gat gat gct cca aga aca ata gct tgc cct cat aaa ggc tgc aca 975
 Glu Asp Asp Ala Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr
 290 295 300

aag agg ttc agg gat aac tct gct atg aaa aag cat ctg cac acc cac 1023
 Lys Arg Phe Arg Asp Asn Ser Ala Met Lys Lys His Leu His Thr His
 305 310 315

ggt ccc aga gtc cac gtc tgt gca gaa tgt ggc aaa gcg ttc gtt gag 1071
 Gly Pro Arg Val His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu
 320 325 330

agc tca aag cta aaa cga cac cag ctg gtt cat act gga gaa aag ccc 1119
 Ser Ser Lys Leu Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro
 335 340 345

ttt cag gtagagccag ttctgttcc ccaaactgca agctagggtg ctggtcaggg 1175
 Phe Gln
 350

tgggtgatat caagcactat ggggcaccgg ttgggggtatt ttattcccat cctcctgtc 1235

tgcttggggtt cctgggttact gctcgggact gcaggtgtta cagatggggg tggagggatt 1295

atgcgaagca ccccccact aaatttctag caggtttaca aaaactcaac agttttgttt 1355

tgtagtgagt agtgtgttga attactgata gagtgttat aagtgtgtt ggctacagct 1415

ccaggtgaca cttggtgtg cttatagaag acacgtgagt tgacagttgg catcactaaa 1475

tatcttaatc atctgtagt tacttcttag agtgtctctg aaaacactca agctgtaaat 1535

ttgcactcag cacagccctt ctgtttctca agaactagcc atgggttgtt agtatcagag 1595

atcccagtgt gtcagttcta aaataccctc acaagggttc cagacgagga aggaggcctg 1655

ctcagcagaa tagtaggtgg tttccatcta agcagtgagc catcgatccc caggttctgg 1715

tctcatttgc caagaggggt gatattcgggt ttttccttga cag tgc aca ttc gaa 1770

Cys Thr Phe Glu
355

ggc tgc ggg aag cgc ttt tca ctg gac ttc aat ttg cgc acg cat gtg 1818
Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn Leu Arg Thr His Val
360 365 370

cga atc cat acc gga gac agg ccc tat gtg tgc ccc ttc gac ggt tgt 1866
Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys Pro Phe Asp Gly Cys
375 380 385

aat aag aag ttt gct cag tca act aac ctg aaa tct cac atc tta aca 1914
Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys Ser His Ile Leu Thr
390 395 400

cac gct aaa gcc aaa aac aac cag tgaaaagaag agagaagacc ttctcgaccc 1968
His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln
405 410

cggggaagcct cttcaggagt gtgattggga ataaatatgc ctctcctttg tatattat 2028

ctaggaagaa ttttaaaaat gaatcctaca cacttaaggg acatgttttg ataaagtagt 2088

aaaaatttaa aaaaatactt taataagatg acattgctaa gatgctctat cttgctctgt 2148

aatctcgttt caaaaacaag gtgtttttgt aaagtgtggt cccaacagga ggacaattca 2208

tgaacttcgc atcaaaagac aattctttat acaacagtgc taaaaatg 2256

<210> 4
<211> 411
<212> PRT
<213> Rattus norv.
<220>
<221> misc_feature
<222> (1759)..(1917)
<223> Zinkfinger

<220>
<221> misc_feature
<222> (955)..(1125)
<223> Zinkfinger

<400> 4

Met Ala Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly Ser Glu Met
1 5 10 15

Pro Ala Glu Ile Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu Thr Ile Pro
20 25 30

Val Glu Thr Ile Glu Thr Thr Val Val Gly Glu Glu Glu Asp Asp Asp
35 40 45

Glu Asp Asp Glu Asp Gly Gly Gly Gly Asp His Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60

His Gly His Ala Gly His His His His His His His His His His Pro
 65 70 75 80

Pro Met Ile Ala Leu Gln Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro Thr Gln Val
 85 90 95

His His His Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu Glu Val Val
 100 105 110

Gly Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly Phe Glu Asp
 115 120 125

Gln Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp Asp Asp Tyr
 130 135 140

Ile Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys Ser Gly Gly
 145 150 155 160

Gly Ser Ser Ser Gly Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly Gly Lys Lys
 165 170 175

Ser Gly Lys Lys Ser Tyr Leu Gly Ser Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly
 180 185 190

Gly Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys Gln Val Gln
 195 200 205

Ile Lys Thr Leu Glu Gly Glu Phe Ser Val Thr Met Trp Ser Ser Asp
 210 215 220

Glu Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu Gln Ile Ile
 225 230 235 240

Gly Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr Gly Lys Lys
 245 250 255

Leu Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp Pro Lys Gln
 260 265 270

Leu Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys Glu Asp Asp
 275 280 285

Ala Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr Lys Arg Phe
 290 295 300

Arg Asp Asn Ser Ala Met Lys Lys His Leu His Thr His Gly Pro Arg
305 310 315 320

Val His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu Ser Ser Lys
325 330 335

Leu Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro Phe Gln Cys
340 345 350

Thr Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn Leu Arg
355 360 365

Thr His Val Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys Pro Phe
370 375 380

Asp Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys Ser His
385 390 395 400

Ile Leu Thr His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln
405 410

<210> 5
<211> 1600
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (43)..(1284)
<223> YY1 (Human)

<400> 5
gaattcggca cgagggcggc cgtggcggcg gagccctcag cc atg gcc tcg ggc 54
Met Ala Ser Gly
1

gac acc ctc tac atc gcc acg gac ggc tcg gag atg ccg gcc gag atc 102
Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly Ser Glu Met Pro Ala Glu Ile
5 10 15 20

gtg gag ctg cat gag atc gag gtg gag acc atc ccg gtg gag acc atc 150
Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu Thr Ile Pro Val Glu Thr Ile
25 30 35

gag acc acg gtg gtg ggc gag gag gag gag gag gac gac gac gag 198
Glu Thr Thr Val Val Gly Glu Glu Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu
40 45 50

gac ggc ggc ggc ggc gac cac ggc ggc ggc ggc ggc ggc cac ggc cac Asp Gly Gly Gly Gly Asp His Gly Gly Gly Gly Gly Gly His Gly His 55 60 65	246
gcc ggc cac cac cat cac cac cac cac cac cac cac cac ccg ccc Ala Gly His His His His His His His His His His His His His Pro Pro 70 75 80	294
atg atc gcg ctg gag ccg ctg gtg acg gac gac ccg acc caa gtg cac Met Ile Ala Leu Glu Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro Thr Gln Val His 85 90 95 100	342
cac ctc cag gag gtg atc ctg gtg cag acg cgc gag gag gtc gtc ggc His Leu Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu Glu Val Val Gly 105 110 115	390
ggg gac gac tcg gac ggc ctg cgc gcc gag gac ggc ttc gag gac gag Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly Phe Glu Asp Glu 120 125 130	438
atc ctc atc ccg gtg ccc gcg ccg gcc ggc ggc gac gac gac tac ata Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp Asp Asp Tyr Ile 135 140 145	486
gag cag acg ctg gtc acc gtg gcg gcg gcc ggc aag agc ggc ggc ggc Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys Ser Gly Gly Gly 150 155 160	534
gcc tcg tcg ggc ggc ggt cgc gtg aag aag ggc ggc ggc aag aag agc Ala Ser Ser Gly Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly Gly Lys Lys Ser 165 170 175 180	582
ggc aag aag agt tac ctg ggc ggc ggc gcc ggc gcg gcg ggc ggc ggc Gly Lys Lys Ser Tyr Leu Gly Gly Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Gly 185 190 195	630
ggc gcc gac ccg ggc aat aag aag tgg gag cag aag cag gtg cag atc Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys Gln Val Gln Ile 200 205 210	678
aag acc ctg gag ggc gag tcc tcg gtc acc atg tgg tcc tcg gat gaa Lys Thr Leu Glu Gly Glu Ser Ser Val Thr Met Trp Ser Ser Asp Glu 215 220 225	726
aaa aaa gat att gac cat gaa aca gtg gtt gaa gag cag atc att gga Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu Gln Ile Ile Gly 230 235 240	774
gag aac tca cct cct gat tat tct gaa tat atg aca ggc aag aaa ctc Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr Gly Lys Lys Leu 245 250 255 260	822
cct cct gga ggc ata cct ggc att gac ctc tca gac cct aag caa ctg Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp Pro Lys Gln Leu 265 270 275	870
gca gaa ttt gcc aga atg aag cca aga aaa att aaa gaa gat gat gct Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys Glu Asp Asp Ala 280 285 290	918

cca aga aca ata gct tgc cct cat aaa ggc tgc aca aag atg ttc agg 966
 Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr Lys Met Phe Arg
 295 300 305

gat aac tct gct atg aga aag cat ctg cac acc cac ggt ccc aga gtc 1014
 Asp Asn Ser Ala Met Arg Lys His Leu His Thr His Gly Pro Arg Val
 310 315 320

cac gtc tgt gca gag tgt ggc aaa gcg ttc gtt gag agc tca aag cta 1062
 His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu Ser Ser Lys Leu
 325 330 335 340

aaa cga cac cag ctg gtt cat act gga gaa aag ccc ttt cag tgc aca 1110
 Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro Phe Gln Cys Thr
 345 350 355

ttc gaa ggc tgc ggg aag cgc ttt tca ctg gac ttc aat ttg cgc aca 1158
 Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn Leu Arg Thr
 360 365 370

cat gtg gga atc cat acc gga gac agg ccc tat gtg tgc ccc ttc gac 1206
 His Val Gly Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys Pro Phe Asp
 375 380 385

ggt tgt aat aag aag ttt gct cag tca act aac ctg aaa tct cac atc 1254
 Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys Ser His Ile
 390 395 400

tta aca cac gct aaa gcc aaa aac aac cag tgaaaaagaag agagaagacc 1304
 Leu Thr His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln
 405 410

ttctcgaccc gggaagcctc ttcaggagtg agattgggaa taaatatgcc tctcctttgt 1364

atattatttc taggaagaat tttaaaaatg aatcctacac acttaaggga catgttttga 1424

taaagtagta aaaattttaa aaatacttta ataagatgac attgctaaga tgctatatct 1484

tgctctgtaa tctcgtttca aaaacaaggt gtttttgtaa agtgtggtcc caacaggagg 1544

acaattcatg aacttcgcat caaaagacaa ttctttatac aacagtgcta aaaatg 1600

<210> 6
 <211> 414
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6

Met Ala Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Ile Ala Thr Asp Gly Ser Glu Met
 1 5 10 15

Pro Ala Glu Ile Val Glu Leu His Glu Ile Glu Val Glu Thr Ile Pro
 20 25 30

Val Glu Thr Ile Glu Thr Thr Val Val Gly Glu Glu Glu Glu Asp
 35 40 45

Asp Asp Asp Glu Asp Gly Gly Gly Gly Asp His Gly Gly Gly Gly Gly
 50 55 60

Gly His Gly His Ala Gly His His His His His His His His His His
 65 70 75 80

His His Pro Pro Met Ile Ala Leu Glu Pro Leu Val Thr Asp Asp Pro
 85 90 95

Thr Gln Val His His Leu Gln Glu Val Ile Leu Val Gln Thr Arg Glu
 100 105 110

Glu Val Val Gly Gly Asp Asp Ser Asp Gly Leu Arg Ala Glu Asp Gly
 115 120 125

Phe Glu Asp Glu Ile Leu Ile Pro Val Pro Ala Pro Ala Gly Gly Asp
 130 135 140

Asp Asp Tyr Ile Glu Gln Thr Leu Val Thr Val Ala Ala Ala Gly Lys
 145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Ala Ser Ser Gly Gly Gly Arg Val Lys Lys Gly Gly
 165 170 175

Gly Lys Lys Ser Gly Lys Lys Ser Tyr Leu Gly Gly Gly Ala Gly Ala
 180 185 190

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp Pro Gly Asn Lys Lys Trp Glu Gln Lys
 195 200 205

Gln Val Gln Ile Lys Thr Leu Glu Gly Glu Ser Ser Val Thr Met Trp
 210 215 220

Ser Ser Asp Glu Lys Lys Asp Ile Asp His Glu Thr Val Val Glu Glu
 225 230 235 240

Gln Ile Ile Gly Glu Asn Ser Pro Pro Asp Tyr Ser Glu Tyr Met Thr
 245 250 255

Gly Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gly Ile Pro Gly Ile Asp Leu Ser Asp
 260 265 270

Pro Lys Gln Leu Ala Glu Phe Ala Arg Met Lys Pro Arg Lys Ile Lys
 275 280 285

Glu Asp Asp Ala Pro Arg Thr Ile Ala Cys Pro His Lys Gly Cys Thr
 290 295 300

Lys Met Phe Arg Asp Asn Ser Ala Met Arg Lys His Leu His Thr His
 305 310 315 320

Gly Pro Arg Val His Val Cys Ala Glu Cys Gly Lys Ala Phe Val Glu
 325 330 335

Ser Ser Lys Leu Lys Arg His Gln Leu Val His Thr Gly Glu Lys Pro
 340 345 350

Phe Gln Cys Thr Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe
 355 360 365

Asn Leu Arg Thr His Val Gly Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val
 370 375 380

Cys Pro Phe Asp Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu
 385 390 395 400

Lys Ser His Ile Leu Thr His Ala Lys Ala Lys Asn Asn Gln
 405 410

<210> 7
 <211> 1080
 <212> DNA
 <213> Rattus norv.

<220>
 <221> CDS
 <222> (883)..(894)
 <223> Verkürzter Zinkfinger (BB.6S)

<220>
 <221> CDS
 <222> (898)..(1056)
 <223> Verkürzter Zinkfinger (BB.6S)

<400> 7
 atggcctcgg gcgacaccct ctacattgcc acggacggct cggagatgcc agccgagatc 60
 gtggaactgc atgagattga ggtggagacc atcccgggtg agactatcga gaccacgggtg 120
 gtgggagagg aggaggacga cgacgaagac gacgaggatg gtggcggcgg agaccacggt 180
 ggcgggggcg gccacgggca cgctggccac caccatcacc accaccacca ccaccaccg 240

```

cccatgatcg cgctgcagcc gctggtcacc gacgacccga cccaagtgca ccaccaccaa   300
gaggtgattc tgggtgcagac gcgcgaggag gtagtggggtg gcgacgactc ggacgggctg   360
cgcgccgagg acgggttcga ggaccagatc ctcattccgg taccgcgcgc ggccggcgga   420
gacgacgact acatcgagca gacgctggtc accgtggcgg cgcccgcaa gagcgggtggc   480
gggtcttcgt cgggcggcgg ccgcgttaag aaggcgggcg gcaagaagag cggcaagaag   540
agttacctgg gcagcggggc cggcgcgggc ggcggtggcg gcgccgaccc gggtaataag   600
aagtgggaac agaagcaggt gcagatcaag accctggagg gcgagttctc ggtcaccatg   660
tgggtcttcag atgaaaaaaaa agatattgac catgaaacag tggttgaaga gcagatcatt   720
ggggagaact cacctcctga ttattctgaa tatatgacag gcaagaaact ccctcctgga   780
gggatacctg gcattgacct ctcagacccc aagcaactgg cagaatttgc cagaatgaag   840
ccaagaaaaa ttaaagaaga tgatgctcca agaacaatag ct tgc cct cat aaa   894
                                   Cys Pro His Lys
                                   1

cag tgc aca ttc gaa ggc tgc ggg aag cgc ttt tca ctg gac ttc aat   942
   Cys Thr Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu Asp Phe Asn
   5                10                15

ttg cgc acg cat gtg cga atc cat acc gga gac agg ccc tat gtg tgc   990
Leu Arg Thr His Val Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro Tyr Val Cys
20                25                30                35

ccc ttc gac ggt tgt aat aag aag ttt gct cag tca act aac ctg aaa   1038
Pro Phe Asp Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr Asn Leu Lys
                40                45                50

tct cac atc tta aca cac gctaaagcca aaaacaacca gtga   1080
Ser His Ile Leu Thr His
                55

```

<210> 8
 <211> 57
 <212> PRT
 <213> Rattus norv.

<400> 8

```

Cys Pro His Lys Cys Thr Phe Glu Gly Cys Gly Lys Arg Phe Ser Leu
1                5                10                15

```

```

Asp Phe Asn Leu Arg Thr His Val Arg Ile His Thr Gly Asp Arg Pro
20                25                30

```


Tyr Val Cys Pro Phe Asp Gly Cys Asn Lys Lys Phe Ala Gln Ser Thr
35 40 45

Asn Leu Lys Ser His Ile Leu Thr His
50 55

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

National Application No

PCT/EP 03/14762

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K14/47 C12N15/11 A61K38/17 G01N33/50 A01K67/027

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, Sequence Search, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 93/04076 A (UNIV PRINCETON) 4 March 1993 (1993-03-04) figure 11; sequences 1,2 page 39, line 22 - page 40, line 27; figures 21-23 page 43, line 26 - line 34 claim 59	11,12
A		1-10,13
X	WO 98/33067 A (ROMERIO FABIO ; DEVICO ANTHONY (US); MARGOLIS DAVID (US); UNIV MARYLAN) 30 July 1998 (1998-07-30) page 10, line 36 - line 37 figure 11 page 14, line 18 - page 15, line 25 page 21, line 14 - page 22, line 14 page 35, line 1 - page 38, line 12 page 66, line 19 - line 20.	11,12
A		1-10, 16-21
	-/--	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 August 2004

Date of mailing of the international search report

07/09/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bayer, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/14762

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>KLÖTING I ET AL: "Genes of SHR rats protect spontaneously diabetic BB/OK rats from diabetes: lessons from congenic BB.SHR rat strains."</p> <p>BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS. 4 MAY 2001, vol. 283, no. 2, 4 May 2001 (2001-05-04), pages 399-405, XP002293254</p> <p>ISSN: 0006-291X</p> <p>cited in the application</p> <p>das ganze Dokument, insbesondere die Diskussion</p> <p>-----</p>	1-28

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/14762

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
W0 9304076	A	04-03-1993	W0 9304076 A1	04-03-1993
W0 9833067	A	30-07-1998	AU 6240098 A	18-08-1998
			W0 9833067 A1	30-07-1998

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

nationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/14762

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C07K14/47 C12N15/11 A61K38/17 G01N33/50 A01K67/027

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, Sequence Search, EMBASE, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 93/04076 A (UNIV PRINCETON) 4. März 1993 (1993-03-04) Abbildung 11; Sequenzen 1,2 Seite 39, Zeile 22 - Seite 40, Zeile 27; Abbildungen 21-23 Seite 43, Zeile 26 - Zeile 34	11,12
A	Anspruch 59	1-10,13
X	WO 98/33067 A (ROMERIO FABIO ; DEVICO ANTHONY (US); MARGOLIS DAVID (US); UNIV MARYLAN) 30. Juli 1998 (1998-07-30) Seite 10, Zeile 36 - Zeile 37 Abbildung 11 Seite 14, Zeile 18 - Seite 15, Zeile 25 Seite 21, Zeile 14 - Seite 22, Zeile 14 Seite 35, Zeile 1 - Seite 38, Zeile 12	11,12
A	Seite 66, Zeile 19 - Zeile 20	1-10, 16-21
	----- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie¹

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

27. August 2004

07/09/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Bevollmächtigter Bediensteter

Bayer, A

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>KLÖTING I ET AL: "Genes of SHR rats protect spontaneously diabetic BB/OK rats from diabetes: lessons from congenic BB.SHR rat strains." BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS. 4 MAY 2001, Bd. 283, Nr. 2, 4. Mai 2001 (2001-05-04), Seiten 399-405, XP002293254 ISSN: 0006-291X in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument, insbesondere die Diskussion</p> <p>-----</p>	1-28

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

nationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/14762

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9304076	A	04-03-1993	WO	9304076 A1	04-03-1993
WO 9833067	A	30-07-1998	AU	6240098 A	18-08-1998
			WO	9833067 A1	30-07-1998